



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Farmacia y Bioquímica

Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

Evaluación in vivo del efecto antiinflamatorio en ratas albinas cepa *Holtzman* y el efecto analgésico en ratones albinos del extracto etanólico de hojas y tallos de *Desmodium molliculum* (Manayupa)

TESIS

Para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico

AUTOR

Rosario Isabel POMA HULLCAPURI

ASESOR

Francisco Javier María RAMIREZ CRUZ

Lima, Perú

2018



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Poma R. Evaluación in vivo del efecto antiinflamatorio en ratas albinas cepa *Holtzman* y el efecto analgésico en ratones albinos del extracto etanólico de hojas y tallos de *Desmodium molliculum* (Manayupa) [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica; 2018.



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Decanato



82 pr A

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los Miembros del Jurado Examinador y Calificador de la Tesis titulada:

Evaluación in vivo del efecto antiinflamatorio en ratas albinas cepa Holtzman y el efecto analgésico en ratones albinos del extracto etanólico de hojas y tallos de *Desmodium molliculum* (Manayupa)

Que presenta la Bachiller en Farmacia y Bioquímica:

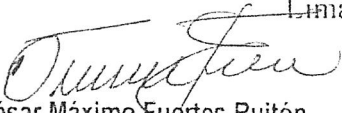
ROSARIO ISABEL POMA HULLCAPURI


Que reunidos en la fecha se llevó a cabo la **SUSTENTACIÓN** de la **TESIS**, y después de las respuestas satisfactorias a las preguntas y objeciones formuladas por el Jurado, y practicada la votación han obtenido la siguiente calificación:


SOBRESALIENTE (18)


en conformidad con el Art. 34.º del Reglamento para la obtención del Grado Académico de Bachiller en Farmacia y Bioquímica y Título Profesional de Químico Farmacéutico(a) de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Lima, 18 de diciembre de 2018


Dr. César Máximo Fuertes Ruitón
Presidente


Mg. Mónica Guadalupe Retuerto Figueroa
Miembro


Mg. Oscar Herrera Calderón
Miembro


Q.F. Walter Rivas Altez
Miembro

"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"

Puno N° 1002, Jardín Botánico – Lima I – Perú

teléfonos: (511) 328-4737 / (511) 679-7000 anexo 4826 Ap. Postal 4559 – Lima I

mail: decanofyb@unmsm.edu.pe

<http://farmacia.unmsm.edu.pe>



TÍTULO:

**“Evaluación in vivo del efecto antiinflamatorio en ratas albinas
cepa Holtzman y el efecto analgésico en ratones albinos
del extracto etanólico de hojas y tallos de *Desmodium
molliculum* (Manayupa)”**

DEDICATORIA

En primer lugar a Dios por brindarme la vida y estar siempre en mi camino.

A mis padres Claudio y Thelma por enseñarme a ser siempre perseverante y que nada en la vida es imposible, por educar a mis hermanos y a mí de la mejor manera.

A mis hermanos Juan Claudio, William y Jhennyfer, por depositar toda la confianza en mí, por sus sabios consejos y su apoyo incondicional, son mis pilares para enfrentar nuevos retos y adversidades.

AGRADECIMIENTO

Un agradecimiento muy especial a la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, por haberme brindado todo lo que he podido aprender hasta el momento.

A mi asesor de Tesis, el Dr. Francisco Javier Ramirez Cruz por toda su paciencia, comprensión, apoyo incondicional, su tiempo y sus valiosas enseñanzas.

Agradecer a mi hermano William, por su apoyo, sus consejos y la motivación que me brinda a pesar de la distancia.

A mi enamorado Gianfranco, por su apoyo, amor incondicional, sobre todo por su paciencia, por haber puesto su mano y su hombro cuando más lo necesitaba.

ÍNDICE

Resumen

Abstract

I.	Introducción	11
1.1.1	Objetivo General.....	13
1.1.2	Objetivos Específicos.....	13
1.2	Hipótesis.....	14
II.	Generalidades.....	15
2.1	Antecedentes.....	15
2.2	Marco teórico.....	23
III.	Materiales y métodos	46
3.1	Métodos	46
3.1.1	Tipo de estudio	46
3.1.2	Universo	46
3.1.3	Tipo de muestreo	46
3.1.4	Muestra	46
3.1.5	Unidad de muestreo	46
3.1.6	Criterios de inclusión	47
3.1.7	Criterios de exclusión	47

3.2	Procedimientos	48
3.2.1	Flujograma de la parte experimental	48
3.2.2	Preparación del extracto etanólico de <i>Desmodium molliculum</i> (Kunth) DC	49
3.2.3	Manejo de los animales de experimentación.....	49
3.2.4	Screening fitoquímico	52
3.2.5	Procedimientos para el estudio del efecto antiinflamatorio de <i>Desmodium molliculum</i> (Kunth) DC.....	52
3.2.6	Procedimientos para el estudio del efecto analgésico de <i>Desmodium molliculum</i> (Kunth) DC.....	53
3.2.7	Análisis estadístico.....	55
IV.	Resultados	56
4.1	Del screening fotoquímico	56
4.2.	Análisis descriptivo y pruebas estadísticas para el..... estudio del efecto antiinflamatorio de <i>Desmodium molliculum</i> (Kunth) DC	57
4.3.	Análisis descriptivo y pruebas estadísticas para el..... estudio del efecto analgésico de <i>Desmodium molliculum</i> (Kunth) DC	61
V.	Discusión	63
VI.	Conclusiones	67
VII.	Recomendaciones.....	68
VIII.	Referencias bibliográficas	69
IX.	Anexos	73

LISTA DE TABLAS

	Pág.
TABLA 1 Clasificación Taxonómica	23
TABLA 2 Criterios de clasificación del dolor	32
TABLA 3 Distribución de los animales de experimentación en base al tratamiento y concentración del extracto etanólico de las hojas y tallos de <i>Desmodium molliculum</i> para el efecto antiinflamatorio.	50
TABLA 4 Distribución de los animales de experimentación en base al tratamiento y concentración del extracto etanólico de las hojas y tallos de <i>Desmodium molliculum</i> para el efecto antiinflamatorio	51
TABLA 5 Marcha fitoquímica del Extracto de <i>Desmodium molliculum</i> (Kunth) DC. Centro de Control Analítico	56
TABLA 6 Comparación de medias del volumen de edema en el extracto etanólico de <i>Desmodium molliculum</i> “manayupa comparable con la fenazopiridina (Pyridium®) en ratas albinas Holtzman	78
TABLA 7 Comparación de medias del volumen de edema en el extracto etanólico de <i>Desmodium molliculum</i> “manayupa comparable con la fenazopiridina en ratas albinas Holtzman según tiempo	78
TABLA 8 Comparación de medias del tiempo de latencia en el extracto etanólico de <i>Desmodium molliculum</i> “manayupa comparable con tramadol (Tramal®) en ratones albinos	80
TABLA 9 Comparación de medias del tiempo de latencia en el extracto etanólico de <i>Desmodium molliculum</i> “manayupa comparable con Tramadol (Tramal®) en ratones albinos según tiempo	80

LISTA DE FIGURAS

		Pág.
FIG. 1	Hojas y tallos de <i>Desmodium molliculum</i> (Kunth) DC	24
FIG. 2	Causas desencadenante en diferentes escenarios de actuación con resultados determinados.	27
FIG. 3	Mecanismo de autoactivación de los receptores activados por proteasas (PAR).	29
FIG. 4	Activación del receptor activado por proteasa del subtipo 1 (PAR1) por trombina.	30
FIG. 5	Fisiología del dolor	36
FIG.6	Esquema general del uréter	39
FIG. 7	Esquema general de la vejiga	40
FIG. 8	Fisiología de la micción	43
FIG. 9	Estructura química de Fenazopiridina	44

Resumen:

El presente trabajo es un estudio de investigación experimental correlacional, prospectivo y transversal, llevado a cabo en el laboratorio de Farmacología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica-UNMSM. Se evaluó el extracto etanólico de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC. “manayupa” y su influencia en el efecto antiinflamatorio y analgésico en comparación con los medicamentos comerciales Fenazopiridina (Pyridium®) y Tramadol (Tramal®) respectivamente, realizado en estudios *in vivo*. La muestra fue recolectada en el distrito de Callejón de Huaylas, departamento de Ancash, Perú. Se determinó los metabolitos secundarios mediante la marcha fitoquímica; identificándose: alcaloides, flavonoides, taninos, saponinas, aminoácidos, azúcares reductores y fenoles.

La actividad antiinflamatoria se evaluó mediante el ensayo de edema plantar inducido por λ -carragenina y la actividad analgésica se evaluó mediante la prueba de placa caliente (Hot Plate). Las dosis administradas del extracto de *Desmodium molliculum* (Kunt) DC, fueron de 50mg/kg, 100mg/kg y 200mg/kg. Demostrando que el extracto etanólico a una concentración de 200mg/kg no posee efecto antiinflamatorio mientras a concentración de 50mg/kg y 100mg/kg se evidenció actividad antiinflamatoria significativa. Por otro lado evaluando el efecto analgésico, se evidenció que no posee tal efecto a ninguna concentración trabajada.

Se realizaron análisis descriptivos y pruebas estadísticas de significancia ANOVA. Los resultados encontrados demuestran que el extracto etanólico de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC tiene un efecto antiinflamatorio y ausencia del efecto analgésico. En conclusión, bajo las condiciones experimentales de la presente investigación el extracto etanólico de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC ha demostrado efecto antiinflamatorio en ratas Holtzman y estadísticamente no tiene el efecto analgésico en ratones albinos.

Palabras clave: antiinflamatorio, analgésico, *Desmodium molliculum* (Kunth) DC.

ABSTRACT

The present work is a correlational, prospective and transversal experimental research study, carried out in the Pharmacology laboratory of the Faculty of Pharmacy and Biochemistry-UNMSM. The ethanolic extract of *Desmodium molliculum* (Kunth) DC was evaluated. "manayupa" and its influence on the anti-inflammatory and analgesic effect compared to the commercial drugs Phenazopyridine (Pyridium®) and Tramadol (Tramal®) respectively, carried out in in vivo studies. The sample was collected in the district of Callejón de Huaylas, department of Ancash, Peru. The secondary metabolites were determined by the phytochemical march; identifying: alkaloids, flavonoids, tannins, saponins, amino acids, reducing sugars and phenols.

The anti-inflammatory activity was evaluated by the test of plantar edema induced by λ -carrageenan and the analgesic activity was evaluated by the hot plate test (Hot Plate). The doses administered of the *Desmodium molliculum* (Kunt) DC extract were 50mg / Kg, 100mg / Kg and 200mg / Kg. Demonstrating that the ethanolic extract at a concentration of 200 mg / kg did not have an anti-inflammatory effect while at a concentration of 50 mg / kg and 100 mg / kg there was evidence of significant anti-inflammatory activity. On the other hand, evaluating the analgesic effect, it was evidenced that it does not have such an effect at any concentration worked.

Descriptive analyzes and statistical tests of ANOVA significance were carried out. The results show that the ethanolic extract of *Desmodium molliculum* (Kunth) DC has an anti-inflammatory effect and absence of the analgesic effect. In conclusion, under the experimental conditions of the present investigation the ethanolic extract of *Desmodium molliculum* (Kunth) DC has demonstrated anti-inflammatory effect in Holtzman rats and statistically does not have the analgesic effect in albino mice.

Keywords: anti-inflammatory, analgesic, *Desmodium molliculum* (Kunth) DC.

I. INTRODUCCIÓN:

Las vías urinarias son los órganos que forman, almacenan y liberan orina del cuerpo. Las deficiencias nutricionales pueden predisponer a inflamaciones. La inflamación de vejiga dolorosa es una patología potencialmente devastadora que tiene un impacto no sólo en la condición física del paciente sino en su función psicosocial y en su calidad de vida. Los pacientes afectados experimentan dolor, urgencia y mayor frecuencia de miccionar, es importante que los abordajes terapéuticos reduzcan los síntomas y mejoren la calidad de vida del paciente minimizando los efectos adversos¹.

El Síndrome de la Vejiga dolorosa/ Cistitis intersticial (SVD/CI) provoca un importante problema de salud. Los pacientes suelen sufrir ansiedad, depresión, pérdida de autoestima, afecta a las relaciones sociales y sexuales, además de un importante gasto económico¹.

Considerando estos problemas, el presente trabajo busca investigar la existencia de principios activos en las plantas provenientes de nuestra flora, con potencial antiinflamatorio y analgésico. Existe un creciente interés en los beneficios de las plantas medicinales, con un creciente número de artículos publicados reclamando que las plantas o sustancias activas derivadas de ellas pueden funcionar como agentes antiinflamatorios^{2,3}. Una gran mayoría de estas investigaciones han determinado el grado de apoyo clínico para el uso tradicional de medicamentos comunes o populares⁴. De los estudios publicados, se tiene claro que *Desmodium molliculum* (Kunth) DC comúnmente llamada “manayupa” funciona como un antiinflamatorio y analgésico. Si bien actúa como un diurético suave². Es de importancia estudiar el potencial antiinflamatorio y analgésico de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC, para dar una base científica

a su uso y además comparar el efecto del fármaco fenazopiridina (Pyridium®), un antiinflamatorio muy utilizado y tramadol (Tramal®), un analgésico de uso frecuente que se encuentran en el mercado frente a una planta medicinal con dicho efecto, fomentando así la utilización de la “medicina natural”.

1.1. OBJETIVOS

1.1.1 OBJETIVO GENERAL

- ✓ Determinar el efecto antiinflamatorio en ratas albinas y el efecto analgésico en ratones albinos de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC “manayupa”

1.1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Realizar el análisis fitoquímico preliminar del extracto etanólico de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC.
- ✓ Determinar el efecto antiinflamatorio a diferentes tiempos y concentraciones en el grupo experimental ratas Holtzman machos, luego de la administración del extracto etanólico de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC.
- ✓ Determinar el efecto analgésico a diferentes tiempos y concentraciones en el grupo experimental ratones albinos, luego de la administración del extracto etanólico de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC.
- ✓ Comparar el efecto antiinflamatorio y analgésico del extracto etanólico de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC frente a fenazopiridina y tramadol respectivamente.

1.2. HIPÓTESIS

El extracto etanólico de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC “manayupa” tiene efecto antiinflamatorio en ratas albinas Holtzman y analgésico en ratones albinos, comparable con la fenazopiridina y tramadol respectivamente.

II. GENERALIDADES

2.1. ANTECEDENTES

Entre las infecciones más importantes del ser humano, la ITU (Infección del tracto urinario) constituye un importante problema de salud que afecta a millones de personas cada año. Es la segunda causa de infección más frecuente en los humanos, es solo superada por las infecciones del tracto respiratorio².

La planta *Desmodium molliculum* (H.B.K) DC, crece en diversas regiones del mundo. En nuestro país es conocida como “manayupa” o “Pata de perro” que son denominaciones populares, y particularmente crece en los andes de los departamentos de Ancash, Ayacucho, Cuzco, Huánuco, Junín, Cajamarca y Lima. Los usos en la medicina tradicional de las plantas del género *Desmodium* son como diurético, depurativo de la sangre, antihemorrágico, antiinflamatorio y contraceptivo oral⁴.

Los metabolitos secundarios identificados en la mayoría de las especies de *Desmodium* son similares salvo ciertas variaciones en la proporción de compuestos específicos que se pueden aislar, es por ello que las propiedades farmacológicas de los extractos de diversas especies de plantas de este género se caracterizan por una similitud muy significativa⁴. En nuestro país Bonilla et al., publicó un estudio sobre la evaluación fitoquímica y actividad biológica de *Desmodium molliculum*, refiriendo como principales metabolitos activos a los flavonoides y su relación con los usos tradicionales⁵.

Acero B., Millones E. en el 2012 investigaron el efecto del extracto etanólico del *Desmodium molliculum* sobre el infiltrado leucocitario en tejido pulmonar y la medición de Inmunoglobulina E (IgE) sérica específica de alérgeno. Determinó el efecto de *Desmodium molliculum* en la inflamación alérgica. Mediante la

prueba de Tukey con $p=0,05$ se obtuvieron valores de diferencia de medias respecto al blanco; para la dosis de 250mg/kg fue de 150,345 (significancia $=0,001$); para 500mg/kg, 59,342 (0,019); y para 1000mg/kg, 89,771 (0,001); la más efectiva fue 500mg/kg. Se evaluó con la misma prueba la diferencia de medias respecto a Dexametasona (2mg/kg): para control negativo, 158,125 ($p=0,001$); blanco, 66,95 (0,004); y 500mg/kg, 7,607 (0,998). El infiltrado peribronquial fue similar para el control (+) y dosis de 250 y 500 mg/kg; en el perivascular destacó la dosis de 500 mg/kg. Conclusión: Según los valores de IgE e infiltrado peribronquial y perivascular en el pulmón, *Desmodium molliculum* tiene un efecto en la inflamación alérgica, efecto similar al obtenido con Dexametasona².

Se evaluaron las actividades analgésicas, antiinflamatorias y antipiréticas de la fracción de éter de petróleo (PEF) del extracto etanólico de *Desmodium podocarpum*, siendo del mismo Género de la planta estudiada en el presente trabajo de investigación. Dando como resultado que la PEF inhibió significativamente las respuestas de retorcimiento en ratones, aumentó el tiempo de reacción de los ratones en la prueba de placa caliente, redujo el edema de pata inducido por carragenina en ratas y el edema de oreja inducido por dimetilbenceno en ratones y la fiebre atenuada por lipopolisacárido (LPS) en ratas. Concluyendo que estos hallazgos sugieren que la PEF posee evidentes actividades analgésicas, antiinflamatorias y antipiréticas, y tiene una seguridad favorable, que respalda el uso de *Desmodium podocarpum* como analgésico, antiinflamatorio y antipirético en la medicina popular como lo señala Zhu Z³.

Según Allué J. en 1998, *Desmodium ascendens* es una planta medicinal africana recientemente introducida en el mercado europeo. Los estudios al respecto

concluyen que tiene una acción terapéutica sobre los problemas hepáticos (especialmente la hepatitis) y los estudios de laboratorio nos muestran una acción antiasmática. Se revisó la composición, las acciones terapéuticas y los estudios clínicos. Se realizó las determinaciones correspondientes a los ensayos: contracción anafiláctica del íleon, espasmos inducidos por histamina, nivel de sustancias estimulantes del músculo liso en la descarga anafiláctica y volumen de histamina en el tejido pulmonar. Dando como resultado que la contracción anafiláctica del íleon del cobayo, a las diferentes concentraciones de antígeno ensayadas, se redujera significativamente cuando los animales sensibilizados recibieron tanto el extracto acuoso, como el extracto alcohólico de la planta. A la concentración más baja de antígeno, es posible que produzca las contracciones actuando directamente sobre el músculo liso en vez de hacerlo a través de los mediadores liberados. Los resultados del ensayo indican que los extractos también son capaces de reducir el contenido de histamina en el pulmón, esto indica que interfiere en el proceso variando el contenido celular de dicha sustancia. En conclusión los resultados presentados sugieren que el preparado objeto del estudio reduce las contracciones anafilácticas, interfiere las contracciones en el íleon inducidas por la histamina y disminuyen la cantidad de histamina y sustancias estimulantes del músculo liso liberadas en el pulmón. Todas estas acciones explican los efectos beneficiosos que se observan en los pacientes asmáticos como lo menciona Allué⁶.

D. Barreto, P. Bonilla 2017 evaluaron la presencia y tipo de flavonoides y saponinas en extractos alcohólicos de hojas de *Desmodium molliculum* HBK “manayupa” con el propósito de contribuir a un mejor conocimiento de la composición química de esta planta. La especie fue colectada en el distrito de

Baños del Inca de la Ciudad de Cajamarca, departamento de Cajamarca a 2776 msnm. La marcha fitoquímica confirmó la presencia de taninos, flavonoides, alcaloides y saponinas. El análisis cromatográfico del extracto alcohólico usando como patrones los isoflavonoides, genisteína y daizeína y el flavonoide vitexina, reveló la probable presencia de estos flavonoides en el extracto alcohólico. El análisis espectroscópico UV permitió confirmar uno de los isoflavonoides como genisteína y otro probablemente 5-O-metil-genisteína de acuerdo a lo mencionado por Barreto⁷.

En relación a la genotoxicidad de *Desmodium molliculum* (Kunth) D.C. (manayupa), Rodriguez E. demostró la genotoxicidad negativa de la planta estudiada. Como modelo biológico se utilizaron ratones albino machos cepa Balb/c-CNPB de 6 a 8 semanas de edad con pesos entre 20 – 30 g. Se establecieron siete grupos experimentales, conformado por siete ratones por grupo, cinco grupos tratados con los extractos a la dosis 1600 mg/kg, dos grupos controles (positivo y negativo); los tratados con los extractos y el control negativo (solución salina al 0.9%) fueron administrados por vía oral y el control positivo por vía intraperitoneal⁸.

Madaleno M. en 2017 realizó el estudio de la herbolaria medicinal y su conocimiento ancestral, la cual señala que deben ser objeto de curiosidad científica por parte de científicos sociales en colaboración con biólogos, químicos y farmacéuticos a fin de proporcionar formas alternativas de mitigar malestares y de resolver problemas de salud que a todos afligen. El artículo desarrolla un análisis geográfico comparativo del cultivo, de la venta y del consumo actual de plantas medicinales en cuatro regiones metropolitanas iberoamericanas⁹.

Manoj y Kumud en el 2013 realizaron un estudio para evaluar la actividad antioxidante del extracto etanólico de *Desmodium gangeticum* y se comparó con el ácido ascórbico (estándar) y las actividades analgésica y antiinflamatoria en modelos animales. El extracto tiene un efecto antiinflamatorio demostrado por sus efectos inhibitorios sobre el edema de la pata inducido por carragenina. El extracto de las hojas de *Desmodium gangeticum* se estudiaron a diferentes niveles de inflamación en ratas después de la administración oral en dosis de 50, 100 y 200 mg/kg. Las hojas de *Desmodium gangeticum* inhiben significativamente el edema de la pata inducido por carragenina. También produjo un aumento significativo en el tiempo de reacción en la placa caliente en ratones, lo que indica un efecto analgésico. La actividad antioxidante de extractos etanólicos de hojas de *Desmodium gangeticum* se estudió por su propiedad de eliminación de radicales libres en diferentes métodos in vitro como 1,1 difenil-2-picrilhidrazilo, óxido nítrico, ensayo de poder reductor y método de radical de peróxido de hidrógeno. Se prepararon diferentes concentraciones de extracto etanólico de *Desmodium gangeticum* y se evaluaron mediante métodos estándar. Los valores de la concentración inhibitoria media (CI50) del extracto etanólico de *Desmodium gangeticum* se compararon con el ácido ascórbico (Estándar) y se observó que en todos los métodos, el extracto mostraba una propiedad de eliminación de radicales libres dependiente de la concentración significativa. Sin embargo, este estudio respalda su uso en el sistema de medicina indígena como agente analgésico y antiinflamatorio y requiere más investigaciones para dilucidar su mecanismo de acción¹⁰.

Otros estudios del Género *Desmodium*, como lo realizaron Lai y Peng en el 2009, dónde evaluaron el efecto analgésico del extracto metanólico de *Desmodium*

triflorum DC utilizando modelos animales de respuesta de contorsión inducida por ácido acético y prueba de formalina. El efecto antiinflamatorio de *Desmodium triflorum* fue investigado por el edema de la pata inducido por λ -carragenina en ratones. Para estudiar el mecanismo antiinflamatorio del extracto de *Desmodium triflorum*, detectamos las actividades de la glutatión peroxidasa (GPx) y la glutatión reductasa (GRd) en el hígado, los niveles de interleucina-1 β (IL-1 β), factor de necrosis tumoral (TNF), malondialdehído (MDA) y óxido nítrico (NO) en el tejido de la pata del edema. En la prueba analgésica, la muestra de *Desmodium triflorum* (0.5 y 1.0 g/kg) disminuyó la respuesta de retorcimiento inducida por ácido acético y el tiempo de lamido en la fase tardía en la prueba de formalina. En la prueba antiinflamatoria, la muestra de *Desmodium triflorum* (0,5 y 1,0 g / kg) redujo el edema de la pata a las 3, 4, 5 y 6 horas después de la administración de λ -carragenina. Por otro lado, la muestra de *Desmodium triflorum* aumentó las actividades de Superoxidasa dismutasa (SOD) y GRd en los tejidos del hígado y disminuyó el nivel de MDA en la pata del edema a la 3ª hora después de la inflamación inducida por λ -carragenina. La muestra de *Desmodium triflorum* también afectó los niveles de IL-1 β , factor de necrosis tumoral alfa, NO y MDA que fueron inducidos por λ -carragenina. Los resultados sugirieron que *Desmodium triflorum* poseía efectos analgésicos y antiinflamatorios. El mecanismo antiinflamatorio de *Desmodium triflorum* podría estar relacionado con la disminución del nivel de MDA en la pata del edema al aumentar las actividades de SOD y GRd en el hígado, y el nivel de NO a través de la regulación de la producción de IL-1beta y el nivel de TNF. -Alpha en los tejidos inflamados¹¹.

Azab y Nassar (2016) presentaron los aspectos más destacados de la literatura publicada sobre las actividades antiinflamatorias de los productos naturales. Muchos artículos de revisión se publicaron respecto a esto, sin embargo, la mayoría de ellos ha presentado este tema importante desde una perspectiva regional limitada. Este documento resume la amplia gama de artículos de revisión e investigación que han informado sobre los efectos antiinflamatorios de los extractos y/o compuestos puros derivados de productos naturales. Además, esta revisión señala algunas plantas medicinales de uso tradicional que aún no se investigaron como el *Desmodium gangeticum*¹².

El diseño experimental fue expost-facto prospectivo, con una muestra del estudio constituido por el total de personas que presentaron infección urinaria, siendo 33 casos los cuales fueron evaluados con signos y síntomas, corroborando con la ayuda de análisis clínicos. Pacientes que fueron encuestados en el Hospital Nacional Arzobispo Loayza. En los resultados se logró registrar un 33% de mujeres que conocen el uso de las plantas medicinales en infecciones urinarias y en hombres un 67% que conocen las plantas medicinales en infecciones urinarias pero no lo usan. EL 62.4% siempre realizan el consumo del herbolario y el 82.3% van a comprar ocasionalmente a parafarmacia. Destacan el hecho de que 1 de cada 3 peruanos consumen plantas medicinales con fines terapéuticos. En conclusión, del total de mujeres, el 33% tienen conocimiento del uso de plantas medicinales en infecciones urinarias y el porcentaje de mujeres a partir de los 50 años, se cuidan más y consumen más plantas medicinales para la infección urinaria. Del total de hombres que presentan infección, el 67% tiene conocimiento del uso de plantas medicinales para la infección urinaria pero no consumen y el porcentaje de hombres que presenta infección a partir de los 50

años a más cuidan su salud. Predisposición a tomar plantas medicinales para infección urinaria, el 92,9; 93% si conocen, el 5% no conocen; el 2% ns/nc. Los hábitos de consumo de plantas medicinales son más frecuentes. Consumidores de plantas medicinales con fines terapéuticos en infección urinaria, el 33% si lo consume y el 67% no lo consume, entre ellos mencionados la manayupa, chancapiedra, yerbaluisa manzanilla, uña de gato, tomillo, zarzamora, el brezo, la capuchina la piña, la chicoria, cola de caballo, el Abedul, el ajo, la muña, linaza, sábila, antiinflamatorios que corrigen el sistema inmune, según Flores y Arbieta¹³.

2.2. MARCO TEÓRICO

2.2.1. *Desmodium molliculum* (Kunth) DC

Se le conoce popularmente como “manayupa”, en las diferentes regiones de Perú. Es nativa de los Andes peruanos, y su especie fue propagada en toda América del Sur y Central. Posee enormes cualidades como antiinflamatorio, antimicrobiano, hepatoprotector, antiséptico, curadora de heridas y reductor de glucosa en el tratamiento de la diabetes^{14,15}.

La identificación taxonómica de la planta fue realizada en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (Constancia N° 276- USM-2018, anexo 3), y tiene la siguiente posición taxonómica según el sistema de clasificación de Cronquist¹⁶.

Tabla N°1: Clasificación Taxonómica

DIVISIÓN	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Rosidae
Orden	Fabales
Familia	Fabaceae
Genero	<i>Desmodium</i>
Especie	<i>Desmodium molliculum</i> (Kunth) DC
Nombre Vulgar	Manayupa

Fuente: Museo de Historia Natural - UNMSM



Fig. N°1: Hojas y tallos de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC

Fuente: Bussmann R., Sharon D. Plantas medicinales de los Andes y la Amazonía. La flora mágica y medicinal del Norte del Perú. Perú. Graficart SRL. 2015.

2.2.2. NOMBRES VULGARES

“Runayupa”, “pata de perro”, “pega pega”, “allco pachaque”, “pie de perro”^{14,15}.

2.2.3. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA

Género con cerca de 350 especies de las regiones tropicales y subtropicales.

La especie *Desmodium molliculum* (Kunth) DC crece en zonas tropicales del mundo, en el Este de México, Brasil y Asia. En nuestro país crece en forma silvestre en los Andes entre 2000 – 2800 msnm principalmente en los departamentos de Ancash, Huánuco, Junín, Cuzco, Ayacucho, Lima y Cajamarca⁷. También presente en Ecuador, Guatemala, Venezuela y en Colombia; *Desmodium molliculum* (Kunth) DC se ha coleccionado en Antioquia, Boyacá, Cauca, Cundinamarca, Nariño, Putumayo y Valle¹⁷.

2.2.4. DISTRIBUCIÓN BOTÁNICA

Planta herbácea perenne, rastrera oriunda del Perú. Mide aproximadamente 50cm de altura. Tallo acanalado, ligeramente rugoso y ramificado, recostado sobre el suelo, anguloso, con pelillos algunos de ellos con la punta en forma de gancho densamente pubescente¹⁸. Posee hojas compuestas, trifoliadas, estipuladas y pubescentes, sus folíolos son de borde liso. Inflorescencia en racimos, con cáliz acampanado, el color de la corola puede variar desde rosado-violácea o blanca. Con estandarte oblongoovado u orbicular. Contienen diez estambres mono a di-adelphos, filamentos unidos en un tubo, cinco más largos que alternan con cinco más cortos, con el vexilar parcialmente soldado a los demás. Ovario lineal, no sésil, estigma pequeño¹⁷. El fruto es simple, articulado de 4 a 8 secciones, mide de 1 a 3 cm y las semillas aproximadamente 1 mm de largo y 0.7 mm de ancho, con forma de riñón color café oscuro¹⁸. Raíz abundante, penetra profundamente en el suelo por lo que es resistente a las sequías^{17,18}.

2.2.5 COMPOSICIÓN QUÍMICA

“La composición química de esta planta ha sido poco estudiada en nuestro medio por lo cual, se conocen muy pocos de sus principios activos”. En la rama de la Bioquímica se menciona que posee moléculas orgánicas específicas como los Terpenos, Flavonoides y Alcaloides aisladas o formando un fitocomplejo que le dan la actividad terapéutica¹⁷.

En Perú Lozano et al publicó un estudio sobre la evaluación fitoquímica y actividad biológica de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC, dando como resultado “la presencia de aminoácidos, compuestos fenólicos, taninos catéquicos, esteroides y/o triterpenos, quinonas y leucoantocianidinas;

destacando como principales metabolitos activos a los flavonoides y esteroides y/o triterpenos”. Demostrando así su relación con los usos tradicionales de los pueblos nativos en problemas de inflamación⁵.

2.2.6 INFLAMACIÓN

La inflamación es la respuesta, del sistema inmunológico de un organismo, al daño causado a sus células y tejidos vascularizados por patógenos bacterianos y por cualquier otro agresor de naturaleza biológica, química, física o mecánica. Aunque dolorosa, la inflamación es, normalmente, una respuesta reparadora; un proceso que implica un enorme gasto de energía metabólica. En ocasiones, transcurre hacia una situación crónica que suele dar lugar a una enfermedad degenerativa como artritis, arteriosclerosis o, incluso, cáncer. Aunque suele acompañarse de una respuesta generalizada «respuesta de fase aguda» caracterizada por un cuadro clínico pasajero de sensación de malestar, fiebre y modificación del perfil de las proteínas y leucocitos circulantes, en ocasiones, la inflamación aguda local provoca una reacción orgánica generalizada «síndrome de respuesta inflamatoria sistémica» que, en una secuencia de reacciones a modo de espiral sin control «inflamación maligna», conduce al fracaso funcional de los diferentes órganos y sistemas «fracaso multiorgánico» y, tras ello, a la muerte del individuo¹⁹.

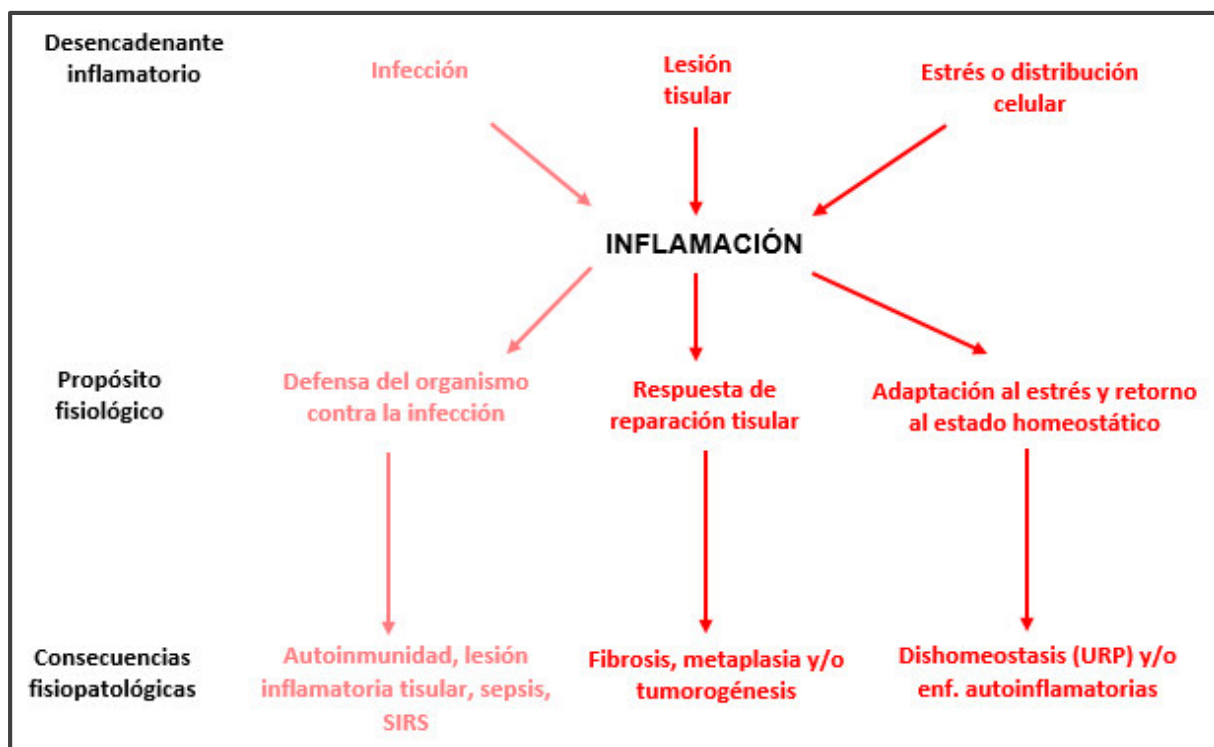


Fig. N° 2. Causas desencadenante en diferentes escenarios de actuación con resultados determinados.

Fuente: García P. Inflamación Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales.. Madrid. 2008; 102: 91-159.

2.2.6.1. MEDIADORES INFLAMATORIOS

Numerosos estudios señalan la importancia del reclutamiento de leucocitos en el foco inflamatorio a partir del pul circulante. Sin embargo, una rápida respuesta requiere células centinelas estacionadas en los tejidos. Los macrófagos y especialmente los mastocitos, cumplen tal función. Los mastocitos perivasculares responden a los neuropéptidos liberados por las terminaciones nerviosas dañadas y estimuladas liberando histamina, triptasa y otras proteasas y TNF- α preformados, y eicosanoides, prostaglandinas inflamatorias, tromboxanos y leucotrienos, citoquinas y quimioquinas neoformadas. Histamina, eicosanoides y triptasas causan vasodilatación responsable del calor y rubor inflamatorio y extravasación responsable del

tumor o edema inflamatorio. Las triptasas mastocíticas siegan el extremo N-terminal exocelular de receptores activados por proteasas, desenmascarando secuencias, previamente crípticas, que autoactivan el receptor. Un receptor que pertenece a la clase GPCR45 y que está presente en mastocitos, terminaciones nerviosas libres sensitivas, endotelio vascular, plaquetas y neutrófilos (Figura 3). Ello potencia la estimulación de los mastocitos y de las terminaciones nerviosas; hace al endotelio adherente para los leucocitos, permeable al fluido intravascular y procoagulante; induce la adhesividad y agregación de las plaquetas e insta a los leucocitos a producir factor activador plaquetario. PAF es el nombre trivial de un fosfolípido [1-Oalquil-2-acetil-sn-glicero-3-fosfocolina] que tiene diversas y potentes acciones fisiológicas. Muchos mediadores lipídicos (ej., eicosanoides) derivan de fosfolípidos, pero el PAF es un fosfolípido intacto que se acopla a un receptor específico. El PAF refuerza la adhesividad endotelial que conduce a la migración leucocitaria desde el vaso al foco inflamatorio, e induce en aquellos la expresión de receptores de quininas¹⁹.

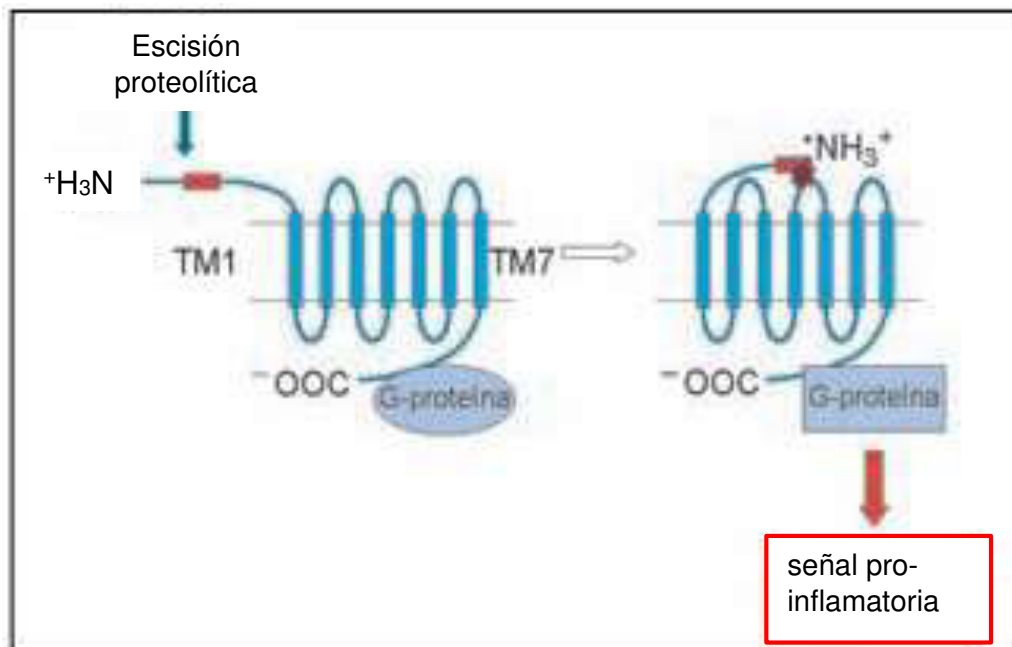


Fig.Nº3: Mecanismo de autoactivación de los receptores activados por proteasas (PAR).

Fuente: García P. Inflamación Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales.. Madrid. 2008; 102: 91-159.

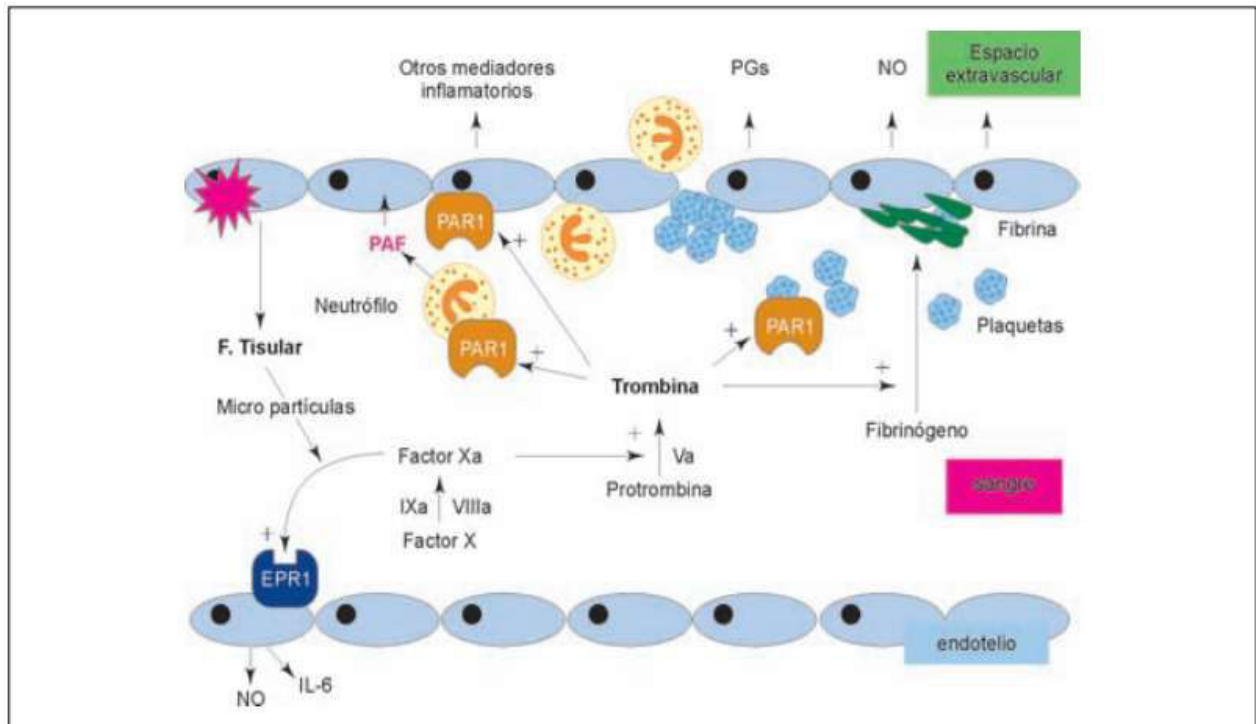


Fig. N°4: Activación del receptor activado por proteasa del subtipo 1 (PAR1) por trombina.

Fuente: García P. Inflamación Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales.. Madrid. 2008; 102: 91-159.

Las citoquinas son un grupo de proteínas o glucoproteínas secretadas, de bajo peso molecular (por lo general menos de 30 kDa) Aunque existen muchos tipos de células productoras de citoquinas, dentro del sistema inmune natural, los macrófagos son las células más comprometidas en la síntesis de citoquinas, mientras que en el sistema inmune específico son las células T colaboradoras (TH) ya que sus citoquinas son esenciales para que se produzca la respuesta inmune, una vez activadas por el contacto con las correspondientes CPA (células presentadoras de antígeno) . Se unen a receptores específicos de la membrana de las células donde van a ejercer su función, iniciando una cascada de transducción intracelular de señal que

altera el patrón de expresión génica, de modo que esas células diana producen una determinada respuesta biológica. La producción de las citoquinas suele ser breve (transitoria), limitada al lapso de tiempo que dura el estímulo (es decir, el agente extraño) En muchos casos ello se debe a que los correspondientes ARNm tienen una corta vida media²⁰.

Se denomina entramado citoquínico a las interacciones, extraordinariamente complejas, de las citoquinas por las que inducen o suprimen su propia síntesis o la de otras citoquinas o sus receptores, y antagonizan o sinergizan entre ellas de maneras diferentes y, a menudo, redundantes. Tales interacciones involucran, en ocasiones, cascadas citoquínicas en las que una citoquina inicial desencadena la expresión de ella y de muchas otras, creando complejos circuitos de retroalimentación. Se denominan citoquinas proinflamatorias aquellas que favorecen la inflamación, siendo prototípicas IL-1, IL-6 y TNF- α . Actúan como pirógenos endógenos, inducen la síntesis de mediadores secundarios y de citoquinas proinflamatorias por macrófagos y por células mesenquimales, estimulan la producción de proteínas de fase aguda y atraen células inflamatorias. El efecto neto de una respuesta inflamatoria está determinada por el balance entre citoquinas pro- y antiinflamatorias (IL-4, IL-10 o IL-13)¹⁹.

Macrófagos activados producen, en respuesta a patógenos y otros estímulos dañinos, TNF, una citoquina con una masa molecular relativa de 17 kDa que se comporta como mediador necesario y suficiente de la inflamación local y generalizada. El incremento de la concentración local de TNF provoca los signos clínicos cardinales de la inflamación: calor, rubor, tumor y dolor¹⁹.

2.2.7 DOLOR

La Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP) define el dolor como “una experiencia sensorial y emocional desagradable asociada con una lesión tisular real o potencial, o que se describe como ocasionada por dicha lesión”. Esta definición aceptada de forma universal, considera en primer lugar que el dolor no es experiencia puramente nociceptiva (sensorial), sino que además incluye componentes emocionales y subjetivos inseparables de la sensación dolorosa; en segundo lugar esta definición evita decir claramente que el dolor esta producido únicamente por el daño tisular, pudiendo aparecer sin causa somática que lo justifique²¹.

Los criterios de clasificación del dolor son múltiples, y en la Tabla N°2 se encuentran los más relevantes²¹.

Tabla N°2. Criterios de clasificación del dolor

Criterio	Clasificación
Duración	Agudo, no crónico
Etiología	No neoplásico, neoplásico, inflamatorio
Mecanismo	Nociceptivo (somático, visceral), neuropático
Localización	Localizado, difuso
Intensidad	Leve, moderado, intenso
Calidad	Urente, lancinante, quemante, punzante

Fuente: Gonzáles J. Analgesia postoperatoria mediante infusión de anestésico local a través de un catéter interfascial en cirugía colorrectal laparoscópica. [Tesis doctoral]. España. 2016. 18-23

2.2.7.1. DOLOR AGUDO Y DOLOR CRÓNICO

La diferenciación entre dolor agudo y crónico se basa tanto en el factor tiempo, como en los mecanismos fisiopatológicos que originan el dolor. El dolor agudo

es la consecuencia inmediata de la activación de los sistemas nociceptivos; se manifiesta generalmente después de una lesión tisular somática o visceral, es autolimitado y desaparece habitualmente con la lesión que lo originó. Tiene una función de protección biológica al actuar como una señal de “alarma” a nivel del tejido lesionado. Los síntomas psicológicos asociados son escasos y habitualmente limitados a una ansiedad leve. Se trata de un dolor de naturaleza nociceptiva y que aparece por una estimulación química, mecánica o térmica de nociceptores específicos²¹.

El dolor crónico, sin embargo, no posee una función protectora, y más que un síntoma de una lesión, puede considerarse en sí mismo una enfermedad. Se ha definido como un dolor que persiste al menos un mes después de la lesión causal, pudiendo perpetuarse por un periodo de tiempo prolongado después de dicha lesión e incluso en ausencia lesión periférica. El dolor crónico suele ser refractario a múltiples tratamientos y está asociado a numerosos síntomas psicológicos: depresión, ansiedad, miedo, insomnio y alteraciones del comportamiento, en especial de las relaciones sociales²¹.

Fisiológicamente el dolor se va a clasificar en:

- **Dolor Nociceptivo:** producido por una estimulación de las vías nociceptivas transmitido a través de las vías ascendentes hacia los centros supra espinales y sea percibido como una sensación dolorosa²².
- **Dolor Neuropático:** producido por una lesión directa sobre el sistema nervioso, de tal manera que el dolor se manifiesta ante estímulos mínimos o sin ellos y suele ser un dolor continuo²².

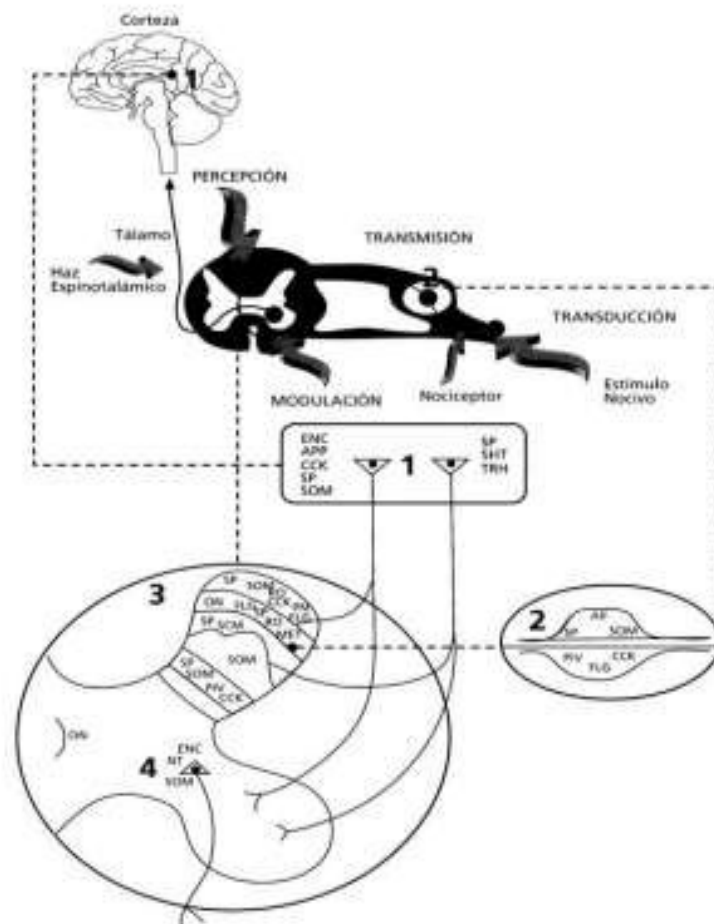
Según la localización del dolor se clasifica como:

- **Dolor Somático:** producido por la activación de los nociceptores de la piel, hueso y partes blandas²².
- **Dolor Visceral:** ocasionado por la activación de nociceptores por infiltración, compresión, distensión, tracción o isquemia de vísceras pélvicas, abdominales o torácicas. El dolor postoperatorio es una especie de dolor agudo no tiene una función biológica, se trata de un dolor iatrogénico, cuyo control inadecuado conduce a reacciones fisiopatológicas y psicológicas anormales causantes de complicaciones en el postoperatorio. Las implicaciones de dolor postoperatorio incluyen diversas respuestas en sistemas²².

2.2.7.1 FISIOLÓGÍA DEL DOLOR

La percepción del dolor empieza con el estímulo de los receptores primarios para el dolor en la piel o tejidos profundos. Los dos tipos de nociceptores, fibras A-delta y C pueden responder a estímulos térmicos, señales químicas, o deformación mecánica. El número y tipo de receptores de dolor en los diversos tejidos varía; por ejemplo, los ligamentos y el periostio, son invadidos ricamente por ellos, por cuya razón las lesiones en estas áreas son bastante dolorosas; en cambio, el cartílago articular normal no tiene receptores de dolor y es posible que se lesione severamente sin que haya dolor. La pleura visceral tampoco tiene receptores para el dolor, lo que explicaría que las enfermedades diseminadas en el abdomen puedan ser poco dolorosas. Cuando el tejido se lesiona, se liberan varias sustancias químicas como histaminas,

prostaglandinas y bradiquininas. Estas señales químicas no sólo estimulan el receptor de dolor, sino que también lo hacen hipersensible para futuros estímulos. Una vez que ocurre un daño o herida, el área afectada se vuelve particularmente sensible e irritable y la isquemia resultante subsecuentemente, en los tejidos dañados, produce dolor por la liberación de estos mensajeros químicos que, cuando afectan las células nerviosas, por el daño en los vasos sanguíneos, se considera la causa de neuropatías periféricas, como sucede en el diabético. El receptor primario del dolor se comunica con la médula espinal a través de cada raíz nerviosa y hace sinapsis con otras neuronas antes que el estímulo doloroso ascienda a centros más altos en el tálamo y el cerebro. La interpretación del estímulo doloroso se puede modificar en la médula espinal. Esta es la base del funcionamiento de algunos tratamientos como la estimulación eléctrica transcutánea (TENS) y otras técnicas de contraestimulación sensitiva. En centros como el tálamo, el cerebro y la médula también se pueden presentar modificaciones en la aparición de dolor a través de vías inhibitorias descendentes. El cerebro y la médula espinal producen opioides endógenos, como las encefalinas y las endorfinas que reducen la percepción de dolor²³.



Transducción: Proceso por el cual el estímulo nocivo periférico se transforma en un estímulo eléctrico. **Transmisión:** propagación del impulso nervioso hasta los nervios sensoriales del SNC. **Modulación:** Capacidad que tienen los sistemas analgésicos endógenos de modificar la transmisión del impulso nervioso, fundamentalmente inhibiendo en las astas posteriores de la médula. **Percepción:** proceso final en el que los tres primeros interactúan con una serie de otros fenómenos individuales, crean la experiencia subjetiva y emocional denominada dolor

Fig. N°5 Fisiología del dolor

Fuente: Maestre J. Colombia Médica. Fisiología del dolor en el adulto mayor.

Corporación Editora Médica del Valle. Colombia. 2001; 32(4): 184-188.

2.2.8 SÍNDROME DE LA VEJIGA DOLOROSA/CISTITIS INTERSTICIAL

Síndrome de vejiga dolorosa/cistitis intersticial (SVD/CI) es una afección dolorosa crónica y de difícil diagnóstico, se tarda una media de 4 años entre la aparición de los primeros síntomas y su diagnóstico. Se caracteriza por la presencia de síntomas irritativos miccionales, aumento de la frecuencia urinaria, urgencia y dolor pélvico crónico. El dolor se localiza a nivel pélvico, en algunos pacientes se irradia a vagina, recto y sacro. El SVD/CI se da con mayor frecuencia en las mujeres, un 85% a 90%, con una importante morbilidad y afectación negativa en la calidad de vida. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), calidad de vida se define como la “percepción que un individuo tiene de su existencia, en el concepto de la cultura y del sistema de valores en los que vive y en relación con sus objetivos, sus expectativas, sus normas, sus inquietudes. Se trata de un concepto muy amplio que está influido de modo complejo por la salud física del sujeto, su estado psicológico, su nivel de independencia, relaciones sociales así como por su relación con los elementos esenciales de su entorno¹.

No existen unos criterios específicos para establecer las causas que provocan el SVD/CI, existiendo muchas teorías. Se relaciona con la presencia de enfermedades de carácter autoinmune (lupus eritematoso, artritis reumatoide, dermatitis...) que provocan una respuesta inflamatoria en la pared interna vesical. También se relaciona con una alteración en la permeabilidad del urotelio que permitiría el paso de sustancias lesivas. Otra teoría es la de una posible predisposición genética. Para justificar el dolor se relaciona con una posible distrofia refleja simpática producida por una inflamación perineural,

mayor vulnerabilidad al dolor crónico (son pacientes con un umbral del dolor muy bajo) ¹.

2.2.9. ANATOMÍA DEL APARATO URINARIO

A. RIÑÓN

El riñón humano es un órgano complejo cuya función consiste en filtrar los productos residuales de la sangre y producir orina. Los dos riñones desempeñan además otras funciones vitales, como el mantenimiento de la homeostasia y la regulación de la presión arterial, la presión osmótica y el equilibrio acidobásico. Los riñones reciben el 25 % del gasto cardíaco total, lo que supone una exposición potencial a las toxinas endógenas y exógenas. Los riñones se sitúan a ambos lados de la columna vertebral en la parte inferior de la espalda. Cada uno de ellos pesa unos 150 g y tiene aproximadamente el tamaño de una naranja. El riñón consta de tres capas: la corteza (capa exterior), la médula y la pelvis renal. La sangre fluye a la corteza y la médula a través de la arteria renal, que se ramifica en arterias cada vez más pequeñas. Cada una de las arterias termina en una unidad de filtración sanguínea denominada nefrona. Un riñón sano contiene aproximadamente 1.200.000 nefronas, estratégicamente situadas dentro de la corteza y la médula²⁴.

B. Uréteres²⁵

Los uréteres (derecho e izquierdo) conectan con la vejiga (que es única), a la cual llegan por la cara posterior. Los uréteres son tubos estrechos de 25 a 30 cm de longitud, con un diámetro desde 1 a 10 mm.

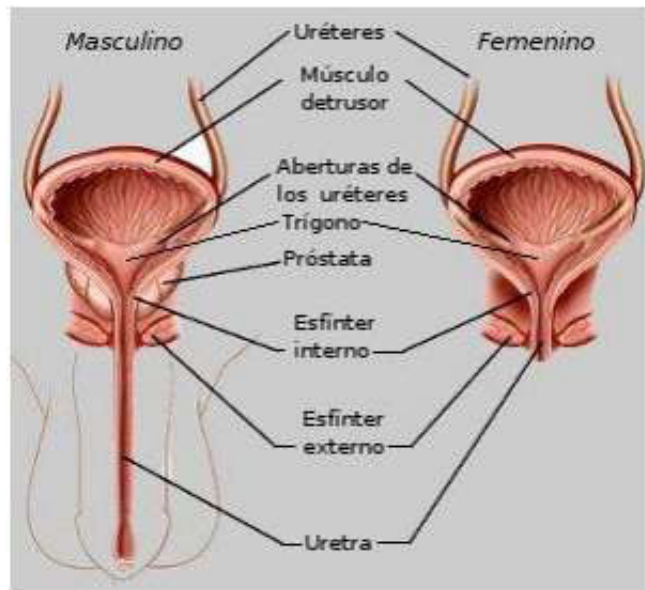


Fig. N°6. Esquema general del uréter

Fuente: Ramón G. Sistema renal y actividad física. Universidad de Antioquia.

Colombia.2010. 2-15.

C. Vejiga

El tracto urinario inferior (TUI) está formado por la vejiga urinaria y la uretra. La vejiga es un órgano hueco músculo membranoso que recibe la orina procedente de los riñones por los uréteres, su función es almacenarla y vaciarla o miccionarla. La capacidad fisiológica de la vejiga es de 300 cc a 350 cc, esta capacidad está disminuida hasta unos 50 cc en los pacientes con síndrome de vejiga dolorosa/cistitis intersticial (SVD/CI)¹.

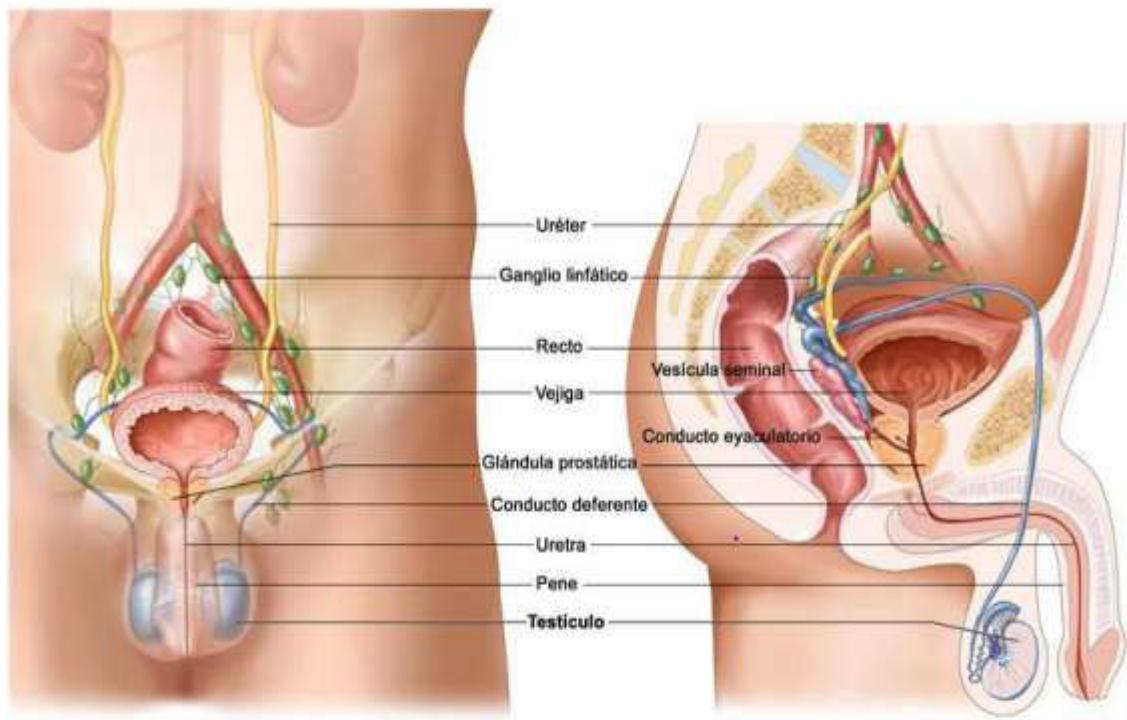


Fig. N°7. Esquema general de la vejiga

Fuente: Gonzáls M., Gonzales F. Síndrome de vejiga dolorosa, cistitis intersticial. Asociación Española de Enfermería en Urología. Canarias. 2012. 14-16.

D. Uretra

La uretra es un tubo conductor que va desde el orificio uretral interno hasta el meato externo u orificio uretral externo. En los hombres, su longitud promedio es de 15 a 20 cm, mientras que en las mujeres es de tan solo 4 cm. En los hombres, la uretra posee tres porciones: a) la uretra prostática que pasa por entre la próstata, b) la uretra membranosa, que es la porción mas corta y se relaciona con el diafragma urogenital y c) la uretra esponjosa, relacionada con el trayecto a través del pene. Tanto en los hombres como en las mujeres, la uretra es la porción terminal del sistema urinario y la vía de paso para expulsar orina del cuerpo²⁵.

2.2.10. FISIOLÓGÍA DEL APARATO URINARIO

2.2.10.1 FORMACIÓN DE LA ORINA

La homeostasis consiste en el mantenimiento constante del medio interno, sin modificación de los parámetros bioquímicos. Esta función se lleva a cabo gracias al riñón que se comporta como una estación depuradora de la sangre que atraviesa los glomérulos renales. La formación de la orina definitiva que produce el aparato excretor es el resultado de tres mecanismos diferentes, a saber²⁶.

- Filtración glomerular.
- Reabsorción tubular.
- Secreción tubular.

2.2.10.2. MECANISMO DE LA MICCIÓN

La pared de la vejiga, especialmente en la zona de unión con la uretra, posee receptores sensitivos de distensión. Éstos son estimulados por la presión que ejerce el llenado vesical, produciendo la sensación de orinar cuando hay 200-300 mL de orina acumulados. La presencia de 400 mL o más provoca una gran presión, lo que produce la sensación de una necesidad impostergable de orinar. El reflejo de micción (acto de orinar) es un reflejo autónomo exclusivo de la médula espinal, pero puede inhibirse o facilitarse por los centros encefálicos (localizados fundamentalmente en la protuberancia del tronco encefálico y en la corteza cerebral)²⁶.

El reflejo de micción autónomo, ubicado en la médula espinal a la altura del sacro entre la S2 y la S4, es el que, a través de los receptores sensitivos de distensión ya comentados, percibe vía aferente el incremento de presión por el llenado vesical y produce la sensación de

ganas de orinar. Cuando el reflejo de micción alcanza una potencia suficiente, los nervios eferentes parasimpáticos provocan las contracciones del músculo detrusor y la relajación (apertura) del esfínter interno, e inhiben al esfínter externo (evitando su cierre o contracción). Esto produce la salida de orina hacia la uretra y, por tanto, hacia el exterior (es una micción refleja, como en los bebés que no controlan aún el esfínter externo). Sin embargo, los centros encefálicos voluntarios pueden controlar la actividad del esfínter externo y, ante el reflejo de micción autónomo, pueden ordenar al esfínter uretral su contracción y cierre, impidiendo la salida de orina. Es decir, voluntariamente podemos inhibir el reflejo de micción hasta encontrar el momento adecuado, en el cual inhibiremos también de manera voluntaria la contracción del esfínter externo y permitiremos salir la orina.

En realidad podemos resumir la micción voluntaria en los siguientes pasos: primero se relaja el esfínter uretral y se contraen voluntariamente los músculos abdominales, lo que aumenta la presión sobre la vejiga y permite que penetre más orina en ésta, distendiendo aún más sus paredes. Esto estimula los receptores de distensión, que inician el reflejo de micción, provocando contracciones del músculo detrusor e inhibiendo al esfínter interno. En general, toda la orina es expulsada, siendo raro que en la vejiga queden más de 5-10 mL residuales.

Por tanto, para que se lleve a cabo la micción voluntaria han de estar intactas todas las estructuras nerviosas implicadas: nervios aferentes y eferentes que inervan la vejiga y uretra, zona sacra de la médula espinal, vías espinales que conectan con el encéfalo, y zonas encefálicas que

controlan la diuresis. Cualquier lesión de alguna de estas estructuras puede provocar la pérdida de control voluntario de la micción (incontinencia urinaria) ²⁶.

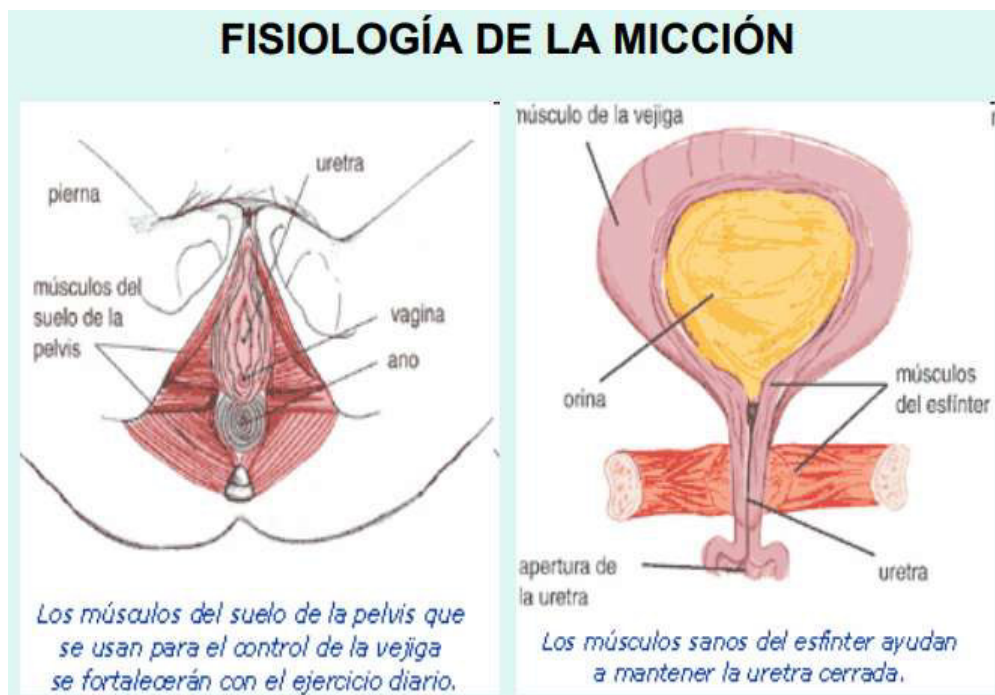


Fig. N° 8: Fisiología de la micción

Fuente: Arenal J. Aparato genitourinario. Curso 14/15. Anatomía aplicada. Disponible en: <http://www.iescarlosbousoño.com/wordpress/wp-content/uploads/2008/04/Aparato-Genitourinario.pdf>

2.3 MECANISMO DE ACCIÓN DE LA FENAZOPIRIDINA

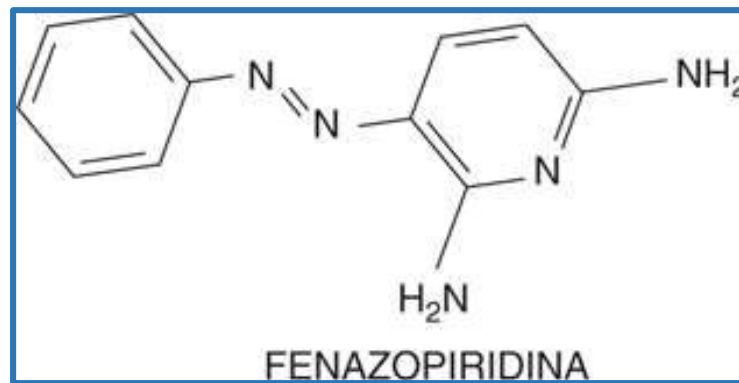


Fig. N° 9: Estructura química de Fenazopiridina

Fuente: Laurence L. Brunton. Goodman y Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 12^a ed. México D.F: McGraw-Hill interamericana editor. 2012.

La fenazopiridina es un medicamento analgésico urinario oral; cuenta con una amplia experiencia histórica de uso y, bajo el paradigma de medicina basada en evidencia, tiene poco fundamento de alta calidad para sustentar su valor terapéutico²⁸.

Es un azocolorante que está indicado en el alivio de las molestias inflamatorias de la mucosa del tracto urinario. Ejerce efecto analgésico tópico o acción anestésica local sobre la mucosa del tracto urinario. Su mecanismo exacto de acción no es aún conocido. Su peso molecular es de 249,70, su biotransformación es principalmente hepática, siendo uno de sus metabolitos el acetaminofén. Hasta el 90% de su eliminación es renal dentro de las primeras 24 horas de su ingesta, Aproximadamente el 18% de una dosis es eliminada como acetaminofén y hasta un 65% de la dosis puede excretarse sin sufrir modificaciones en su molécula²⁹.

Se absorbe por vía oral, se metaboliza principalmente en el hígado, uno de sus principales metabolitos es el paracetamol. La fenazopiridina no se liga a las proteínas del plasma, su vida media es de 8 a 12 horas. Se elimina por vía renal; 80% de la dosis administrada se excreta en forma inalterada en 24 horas²⁹.

2.4 MECANISMO DE ACCIÓN DEL TRAMADOL

Es un agonista puro, no selectivo sobre los receptores opioides μ , δ y κ , con mayor afinidad por los receptores μ . Otros mecanismos que contribuyen a su efecto analgésico son la inhibición de la recaptación neuronal de noradrenalina así como la intensificación de la liberación de serotonina. La capacidad de tramadol para inhibir la captación neuronal de monoaminas en la misma franja de concentraciones a la cual se une a los receptores opiáceos μ , le diferencia de los opiáceos típicos³⁰.

El tramadol es una mezcla de enantiómeros (+) y (-) que parece que actúan sinérgicamente para producir analgesia. El enantiomero (+) es cinco veces más potente en la captación de 5-HT y tiene una afinidad mayor por reunirse a los receptores³⁰.

III. MATERIALES Y MÉTODOS:

3.1 MÉTODOS:

3.1.1 DISEÑO DE ESTUDIO:

Experimental, correlacional, prospectivo y transversal.

3.1.2 Universo:

El universo del presente trabajo de investigación estuvo conformado por ratas Holtzman machos de 220 – 240 g y ratones albinos (*Mus mûsculus*) machos de 15 – 30 g.

3.1.3 Tipo de muestreo:

El tipo de muestreo fue aleatorio, por conveniencia.

3.1.4 MUESTRA:

De acuerdo a las investigaciones anteriores fueron 30 ratas Holtzman machos y 40 ratones albinos machos del Instituto Nacional de Salud del Perú, los cuales fueron divididos en 2 grupos, para el análisis de efecto antiinflamatorio se trabajaron con 5 grupos de 6 ratas y para el análisis de efecto analgésico se trabajaron con 5 grupos de 8 ratones cada uno. Cada uno de los sujetos de investigación cumplió con los criterios de inclusión para el presente trabajo de investigación.

3.1.5 UNIDAD DE MUESTREO:

Se utilizaron ratas Holtzman machos de 200 a 240 gramos de peso y ratones albinos machos Balb/c de 20 a 25 gramos de peso adquiridos en el Instituto Nacional de Salud, los cuales se mantuvieron en condiciones

controladas de temperatura (22 ± 3 °C) y humedad relativa (entre 40 – 60 %), expuestos a ciclos de luz y oscuridad de 12/12 horas, con agua y alimento *ad libitum*.

3.1.6 CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

Los pesos de las ratas macho no deben diferir de 10 g y deben tener un promedio por grupo de 230 g.

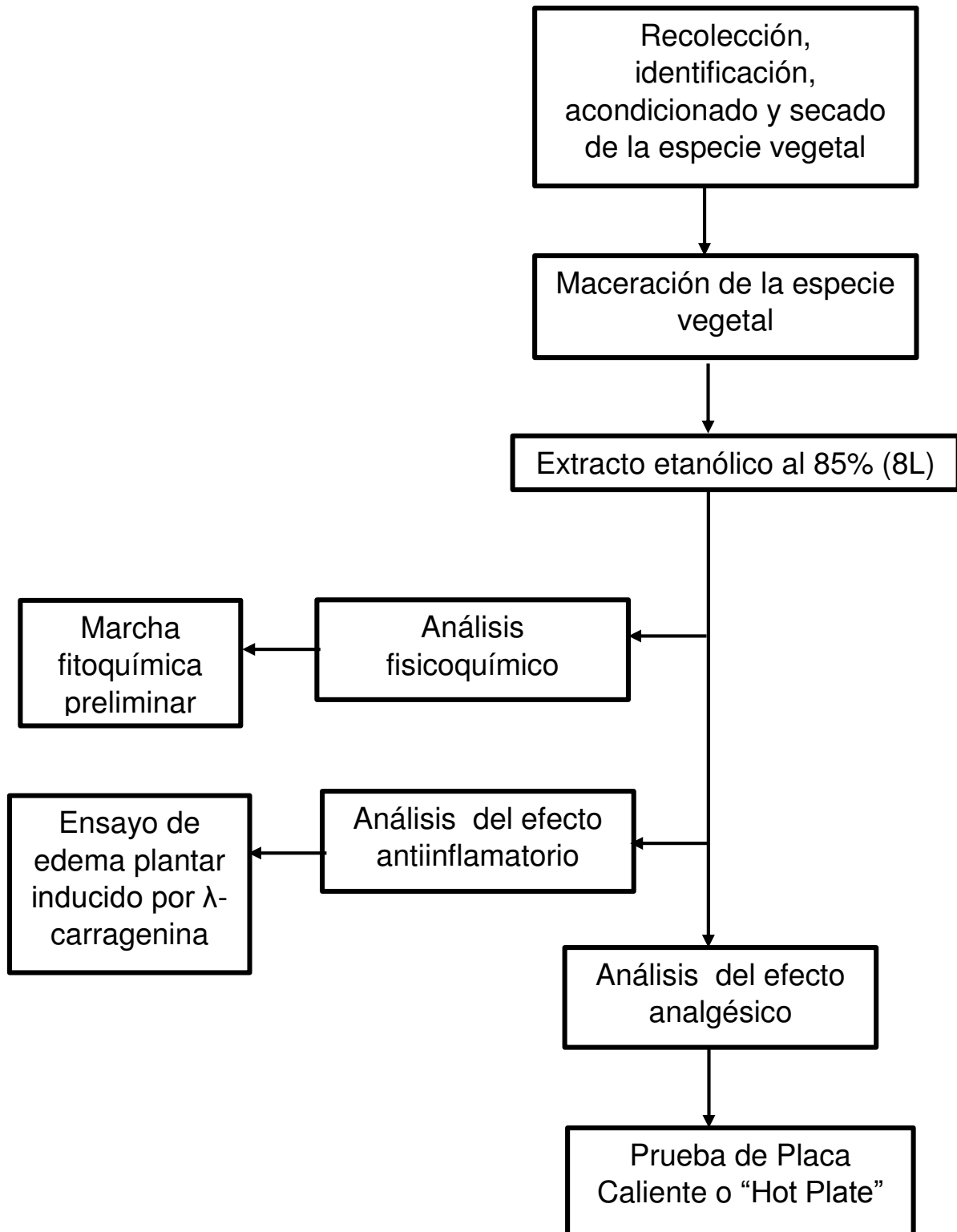
Los pesos de los ratones no deben diferir de 10 g y deben tener un promedio por grupo de 23 g.

3.1.7 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:

- Ratas grávidas.
- Ratas hembras
- Ratas con peso mayor a 250 g
- Ratones con peso mayor a 25g.

3.2 PROCEDIMIENTOS:

3.2.1 FLUJOGRAMA DE LA PARTE EXPERIMENTAL



3.2.2 PREPARACIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Desmodium*

***molliculum* (Kunth) DC:**

La planta usada en este estudio farmacológico, se recolectó en las bases de las montañas de poblaciones silvestres en el callejón de Huaylas del departamento de Ancash durante el mes de Julio del año 2018. La planta fue identificada y autenticada por la Magíster Asunción Cano en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (Anexo 6).

La técnica utilizada para la preparación del extracto se tomó en cuenta la de Zhan-Zhou⁶ tal como sigue: Las hojas y tallos recolectados fueron llevadas a una cámara de secado a 40°C durante un periodo de 24 horas, y luego fue pulverizada, separando 500g que fue empleado en la preparación del extracto etanólico.

El polvo seco final fue mezclado con alcohol etílico al 85% (8L)³, dicha mezcla se dejó macerar por 10 días con agitación diaria, para una adecuada extracción de sustancias polares y no polares. Al término de los 10 días se filtró el solvente, obteniendo el extracto activo, el cual fue evaporado en una estufa de circulación de aire forzada a 40 °C por 72 horas. El extracto seco se utilizó para las respectivas diluciones y administración en los animales de experimentación.

3.2.3. MANEJO DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN:

Se emplearon 30 ratas Holtzman machos y 50 ratones machos. Las ratas tuvieron un peso promedio entre 180 a 220 g y los ratones un peso promedio entre 30 a 35 g, estos animales fueron obtenidos del Instituto Nacional de Salud (INS). El desarrollo experimental fue realizada en el laboratorio de Farmacología

de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM durante los meses octubre-noviembre del año 2018. En dicho lugar se mantuvieron a las condiciones de temperatura ($22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$), ciclos de luz-oscuridad (12 horas-12 horas), con dieta balanceada y agua ad libitum.

Las ratas y ratones fueron divididos en 5 grupos teniendo al final la siguiente disposición:

i) **Efecto antiinflamatorio:**

<i>Cód.</i>	<i>Grupo</i>	<i>Tratamiento</i>	<i>Concentración</i>	<i>Volumen administrar</i>	<i>Vía Adm.</i>	<i>Número Animales</i>
G1	Blanco	Suero Fisiológico	0,9%	1 mL/100g	V.O.	6
G2	Control	Fenazopiridina (Pyridium®)	50 mg/kg		V.O.	6
G3	Extracto etanólico de las hojas y tallos de <i>Desmodium molliculum</i>	Extracto etanólico al 85%	50 mg/kg		V.O.	6
G4			100 mg/kg		V.O.	6
G5			200 mg/kg		V.O.	6

Tabla N°3. Distribución de los animales de experimentación en base al tratamiento y concentración del extracto etanólico de las hojas y tallos de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC para el efecto antiinflamatorio.

ii) **Efecto analgésico:**

Cód.	Grupo	Tratamiento	Concentración	Volumen administrar	Vía Adm.	Número Animales
G5	Blanco	Suero Fisiológico	0,9%	0,1 mL/10g	V.IP	8
G2	Control	Tramadol (Tramal®)	50 mg/kg		V.IP	8
G3	Extracto etanólico de las hojas y tallos de <i>Desmodium molliculum</i>	Extracto etanólico al 85%	50 mg/kg		V.IP	8
G4			100 mg/kg		V.IP	8
G1			200 mg/kg		V.IP	8

Tabla N°4. Distribución de los animales de experimentación en base al tratamiento y concentración del extracto etanólico de las hojas y tallos de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC para el efecto antiinflamatorio.

3.2.3.1 ÉTICA DE LA EXPERIMENTACIÓN CON ANIMALES

El presente estudio, según los protocolos de manejo de animales, se respeto las normas de la ética y manipulación de animales siguiendo los 5 principios de Marshall Hall³¹:

1. La experimentación no debe realizarse si la observación puede sustituirla.
2. Ningún experimento debe ser realizado sin un objetivo claro.
3. Los científicos deben estar bien informados acerca de los experimentos de sus colegas, para evitar repeticiones innecesarias.
4. Los experimentos justificados deben llevarse a cabo con el menor dolor posible.
5. Cada experimento debe realizarse bajo circunstancias que den lugar a los resultados más claros y eviten la repetición de los mismos

3.2.4. SCREENING FITOQUÍMICO⁵

Se realizó reacciones de identificación o coloración para determinar la presencia de metabolitos activos haciendo uso de reactivos específicos realizándose ensayos para detectar alcaloides, compuestos fenólicos, taninos, aminoácidos, esteroides y saponinas basado en la aplicación de pruebas de coloración y precipitación.

3.2.5. PROCEDIMIENTO PARA EL ESTUDIO DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Desmodium molliculum* (Kunth) DC:

Se realizó la evaluación el efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de las hojas y tallos de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC mediante el ensayo de edema plantar inducido por λ -carragenina^{3,32}.

La actividad antiinflamatoria se evaluó sobre la base de la inhibición del edema de la pata inducida por la inyección de λ -carragenina al 1% en la región subplantar de la pata trasera derecha de la rata. Se dividió las ratas en 5 grupos de seis animales, los que fueron tratados por vía orogástrica con suero fisiológico al 0,9%; fenazopiridina (50 mg/kg), el extracto etanólico de las hojas y tallos de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC (a concentraciones de 50, 100 y 200 mg/kg). Después de 30 minutos, se procedió a inyectar 0,1 mL de λ -carragenina al 1% por vía subcutánea en la región subplantar de la pata trasera derecha de la rata en todos los grupos. Se realizaron mediciones en intervalos de una hora después de la inyección de λ -carragenina hasta el período de 7 horas. La medida del edema se realizó utilizando el

pletismómetro. El porcentaje de inhibición de la reacción inflamatoria a la λ -carragenina, se calculó con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Inflamación} = (V_{tx} - V_{t0}) \times 100 / V_{t0}$$

Donde:

V_{tx} : Volumen de la pata inflamada a un tiempo X

V_{t0} : Volumen normal de la pata

3.2.6. PROCEDIMIENTO PARA EL ESTUDIO DEL EFECTO ANALGÉSICO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Desmodium molliculum* (Kunth) DC:

Se realizó la evaluación el efecto analgésico del extracto etanólico de las hojas y tallos de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC mediante la prueba de placa caliente³.

A. Prueba de Placa Caliente o “Hot Plate”

Antes que se lleve a cabo la prueba, los ratones fueron sometidos a un proceso de selección, el cual consistió en colocar los ratones en una placa caliente ($55^{\circ}\text{C} \pm 0.1^{\circ}\text{C}$), donde solo los ratones con una respuesta (lamido de la pata o salto fuera de la superficie caliente) de 5 a 10 segundos fueron incluidos en el estudio. Los ratones seleccionados fueron divididos por igual en cinco grupos de 8 ratones cada uno. Para obtener el promedio de las dos lecturas, se tomó el tiempo de reacción inicial o latencia basal. Los animales fueron tratados con suero fisiológico al 0,9%, Tramadol (Tramal®) 50 mg/kg; V.I.P y el extracto etanólico de hojas y tallos de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC (a concentraciones de 50, 100 y 200 mg/kg; V.I.P) (Ver Tabla 4). La respuesta nociceptiva (por ejemplo: lamiéndose la pata o saltando fuera de la superficie

caliente) se midió 30 minutos después del tratamiento y cada 30 min por 2h, los ratones fueron retirados de la placa caliente inmediatamente después de la respuesta mostrada, cabe mencionar que los ratones no se quedaron más de 30 segundos en la placa caliente para evitar daño tisular, este fue el tiempo de corte. El aumento en el tiempo de latencia en relación con el tiempo inicial para cada grupo se tomó como un indicador del efecto analgésico y se comparó con los valores de los animales de control para la comparación estadística.

Los tiempos de latencia fueron transformados en % del máximo efecto posible (MPE o % de antinocicepción) según la siguiente fórmula:

$$\% \text{ MPE} = 100 \times [(L2 - L1) / (T1 - L1)]$$

Donde:

- L1 = latencia basal
- L2 = latencia postdroga
- T1 = tiempo de corte

En el siguiente cuadro se muestra la metodología del efecto antiinflamatorio y analgésico empleados:

Cuadro 1: Esquema de evaluación del efecto antiinflamatorio y anagésico

DISEÑO EXPERIMENTAL	
EFFECTO ANTIINFLAMATORIO	EFFECTO ANALGÉSICO
Fenazopiridina (Pyridium®) en dosis únicas	Tramadol (Tramal®) en dosis únicas
Esquemas evaluados G1) Suero fisiológico G2) Fenazopiridina G3) <i>Desmodium molliculum</i> 50 mg/kg G4) <i>Desmodium molliculum</i> 100 mg/kg G5) <i>Desmodium molliculum</i> 200 mg/kg	Esquemas evaluados G5) Suero fisiológico G2) Tramadol G3) <i>Desmodium molliculum</i> 50 mg/kg G4) <i>Desmodium molliculum</i> 100 mg/kg G1) <i>Desmodium molliculum</i> 200 mg/kg
Resultados esperados Se demostró que a 50 mg/kg, 100 mg/kg y a 200 mg/kg, <i>Desmodium molliculum</i> tiene efecto antiinflamatorio	Resultados esperados Se demostró que <i>Desmodium molliculum</i> no tiene efecto analgésico

3.2.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO:

Se utilizó el programa Excel del paquete Office 2013 Windows para la realización de la interpretación descriptiva de los datos y el desarrollo de los respectivos gráficos. Las pruebas para el análisis de la significancia estadística utilizadas fueron la prueba ANOVA y Tukey ($p < 0.05$). (ANEXO 5)

IV. RESULTADOS:

4.1. DEL SCREENING FITOQUÍMICO:

Se obtuvo un extracto etanólico con aspecto de masa homogénea, consistencia blanda, color verde petróleo, libre de partículas extrañas. El estudio fitoquímico en determinaciones cualitativas efectuadas demostró que los flavonoides, aminoácidos, taninos, azúcares reductores y fenoles, estuvieron en mayor cantidad en la muestra de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC (Anexo 4, Tabla 5)

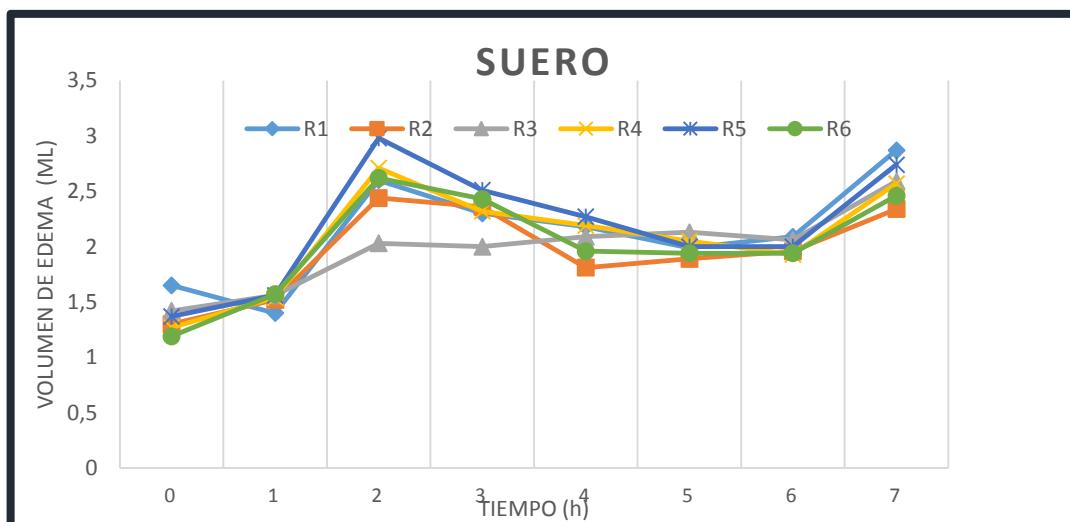
MARCHA FITOQUÍMICA		
METABOLITO	ENSAYO	RESULTADOS
ANTOCIANINAS	Prueba cualitativa	-
ALCALOIDES	Reacción de Dragendorff	+
	Reacción de Mayer	-
	Reacción de Wagner	+
LACTONAS	Reacción de Baljet	+
FLAVONOIDES	Reacción de Shinoda	++
AMINOÁCIDOS	Reacción de Nihidrina	++
CARDENÓLIDOS	Reacción de Kedde	+
ESTEROIDES	Reacción de Liebermann - Burchard	-
SAPONINAS	Reacción de Espuma	-
TANINOS	Reacción de cloruro férrico	+++
TRITERPENOS	Reacción de Liebermann - Burchard	-
AZÚCARES REDUCTORES	Reacción de Fehling	+++
FENOLES	Reacción de cloruro férrico	+++

Leyenda: Reacción muy evidente (+++), Reacción evidente (++) , Reacción poco evidente (+), No hubo reacción (-)

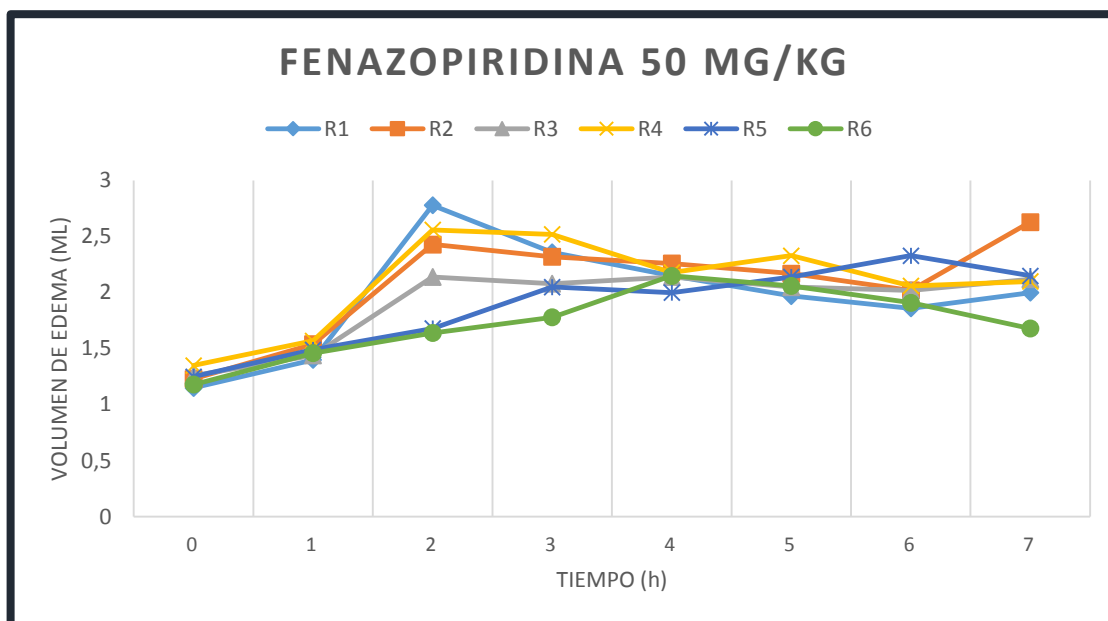
Tabla 5. Marcha fitoquímica del Extracto de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC. Centro de Control Analítico (Anexo 4)

4.2. EFECTO DEL TRATAMIENTO ANTIINFLAMATORIO:

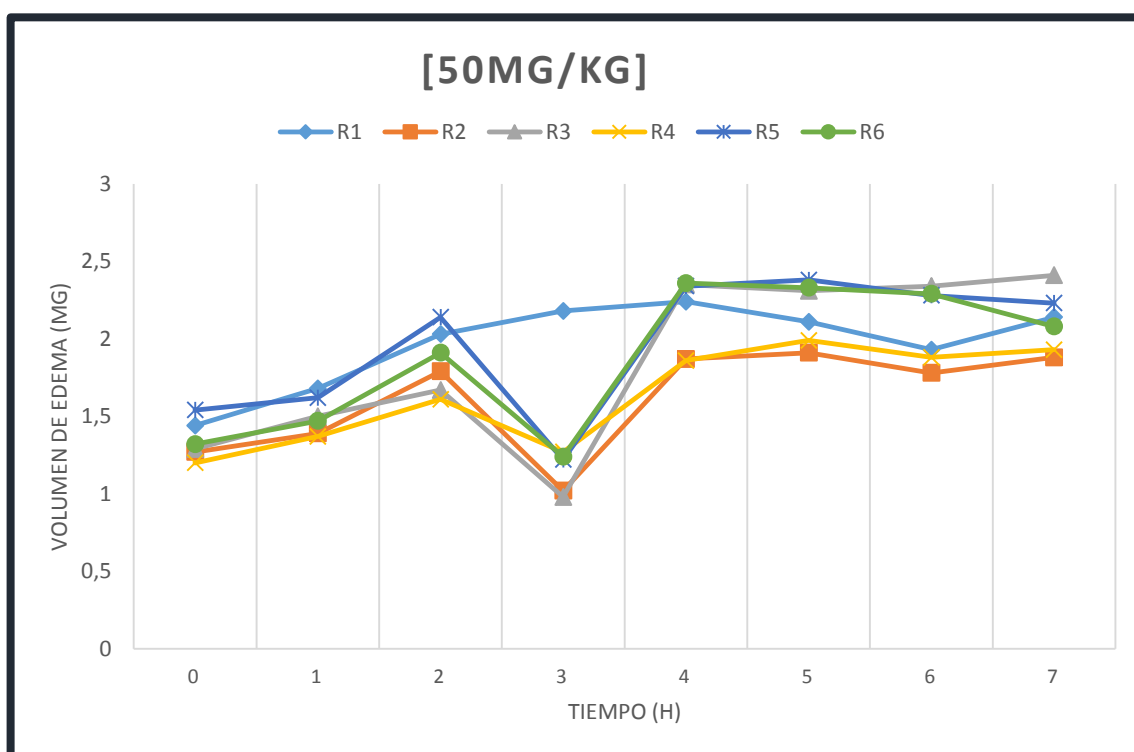
En las siguientes gráficas se observa, de manera descriptiva, el efecto que se evidencio por grupo y dosis trabajada con respecto al tiempo del efecto antiinflamatorio en asociación al volumen de edema. Gráfica N°1: Suero 5mL/Kg, Gráfica N°2: Fenazopiridina (Pyridium®) a dosis de 50mg/kg, Gráfica N°3: Extracto etanólico de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC a dosis de 50mg/kg, Gráfica N°4: Extracto etanólico de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC a dosis de 100mg/kg y Gráfica N°5: Extracto etanólico de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC a dosis de 50mg/kg.



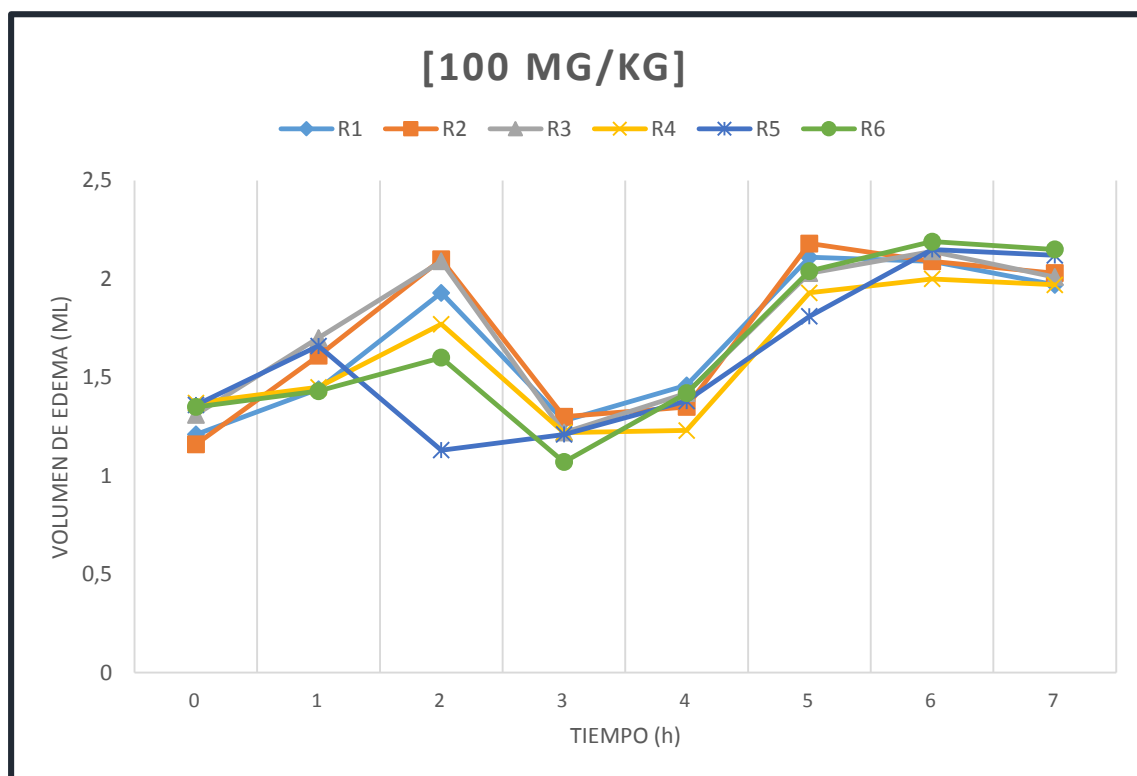
Gráfica N°1. Asociación entre el volumen del edema y el tiempo en horas tratado con Suero 5mL/Kg



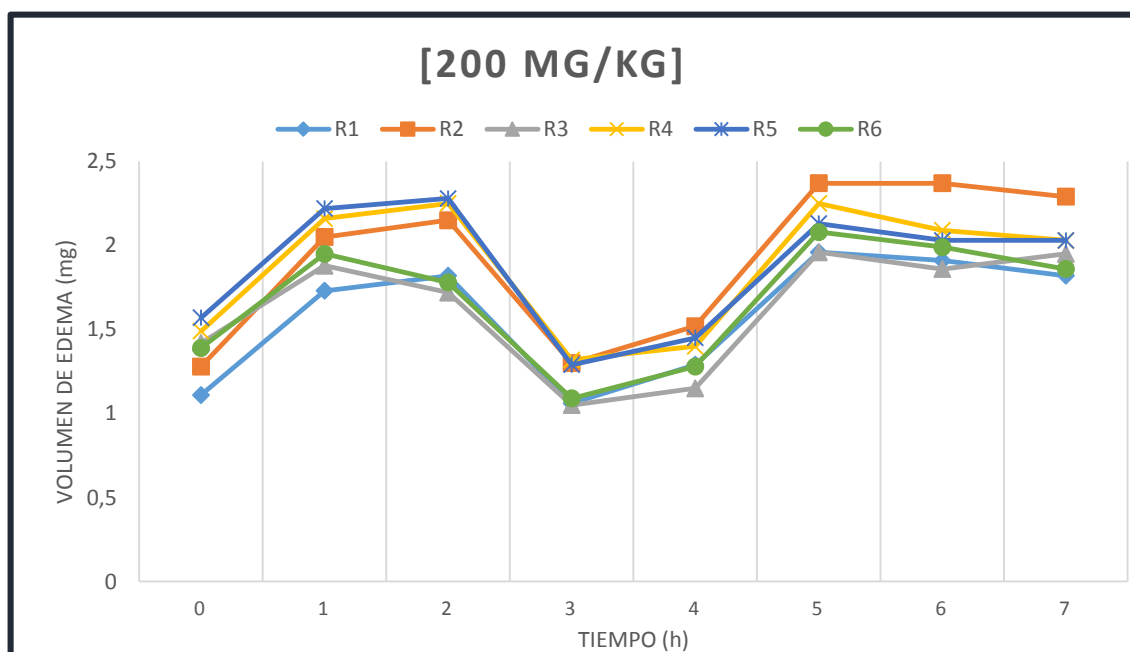
Gráfica N°2. Asociación entre el volumen del edema y el tiempo en horas tratado con Fenazopiridina (Pyridium®) a dosis de 50 mg/kg



Gráfica N°3. Asociación entre el volumen del edema y el tiempo en horas tratado con extracto de *Desmodium molliculum* a dosis de 50 mg/kg

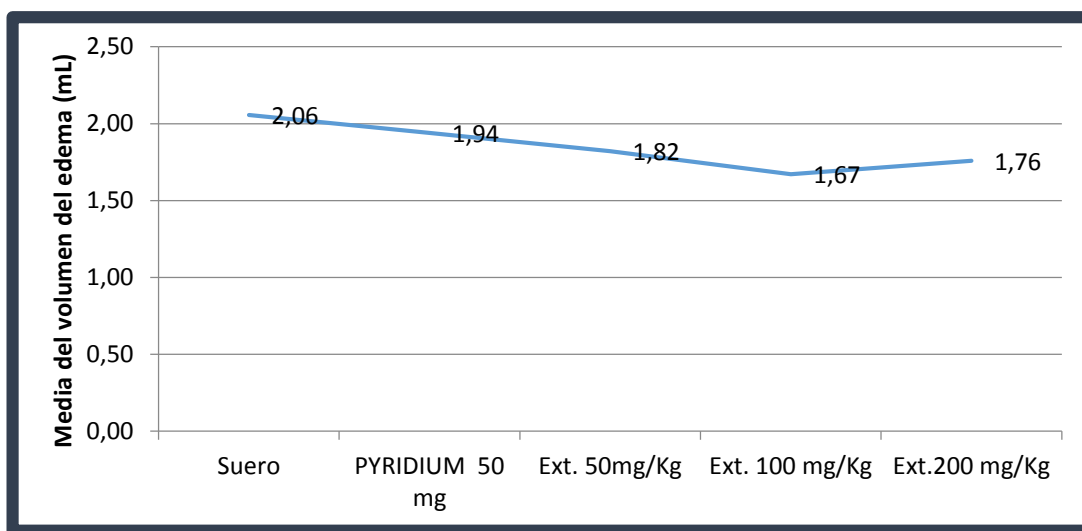


Gráfica N°4. Asociación entre el volumen del edema y el tiempo en horas tratado con extracto de *Desmodium molliculum* a dosis de 100 mg/kg

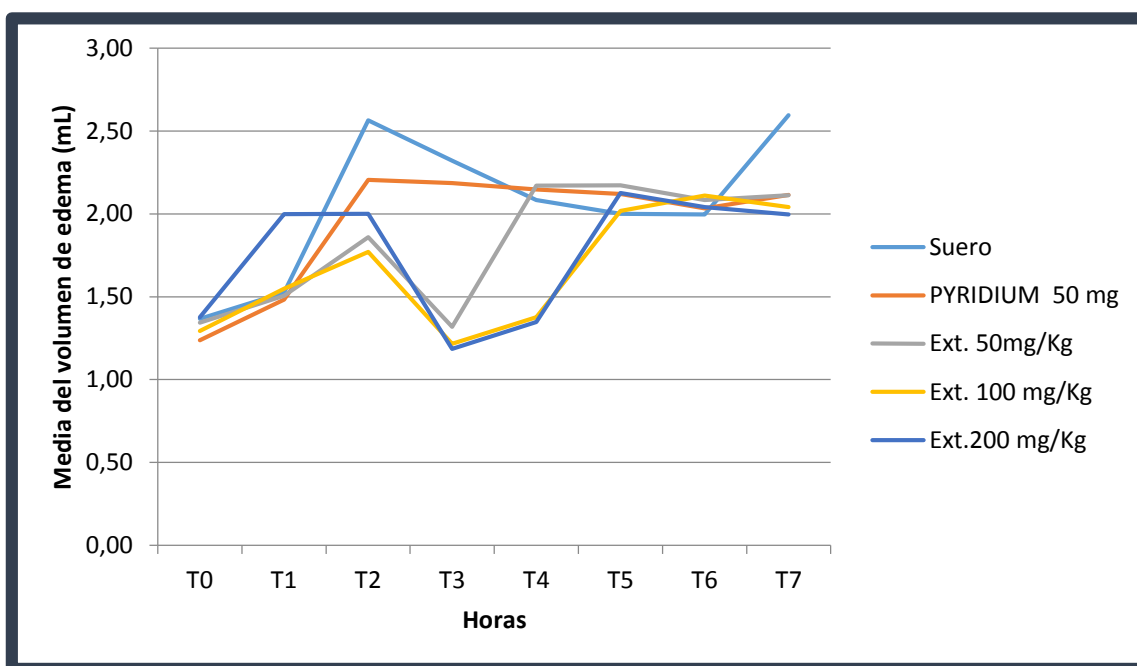


Gráfica N°5. Asociación entre el volumen del edema y el tiempo en horas tratado con extracto de *Desmodium molliculum* a dosis de 200 mg/kg

En la Gráfica N°6 se observa, de manera descriptiva, que existe efecto antiinflamatorio del extracto de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC con respecto al grupo control. Se puede notar claramente que el extracto tuvo un efecto notorio en relación al suero fisiológico y mayor también que Fenazopiridina (Pyridium®) según la concentración del extracto para ambos indicadores, siendo este hallazgo estadísticamente significativo ($p < 0.05$).



Gráfica N°6. Asociación entre la media del volumen del edema y las dosis recomendada

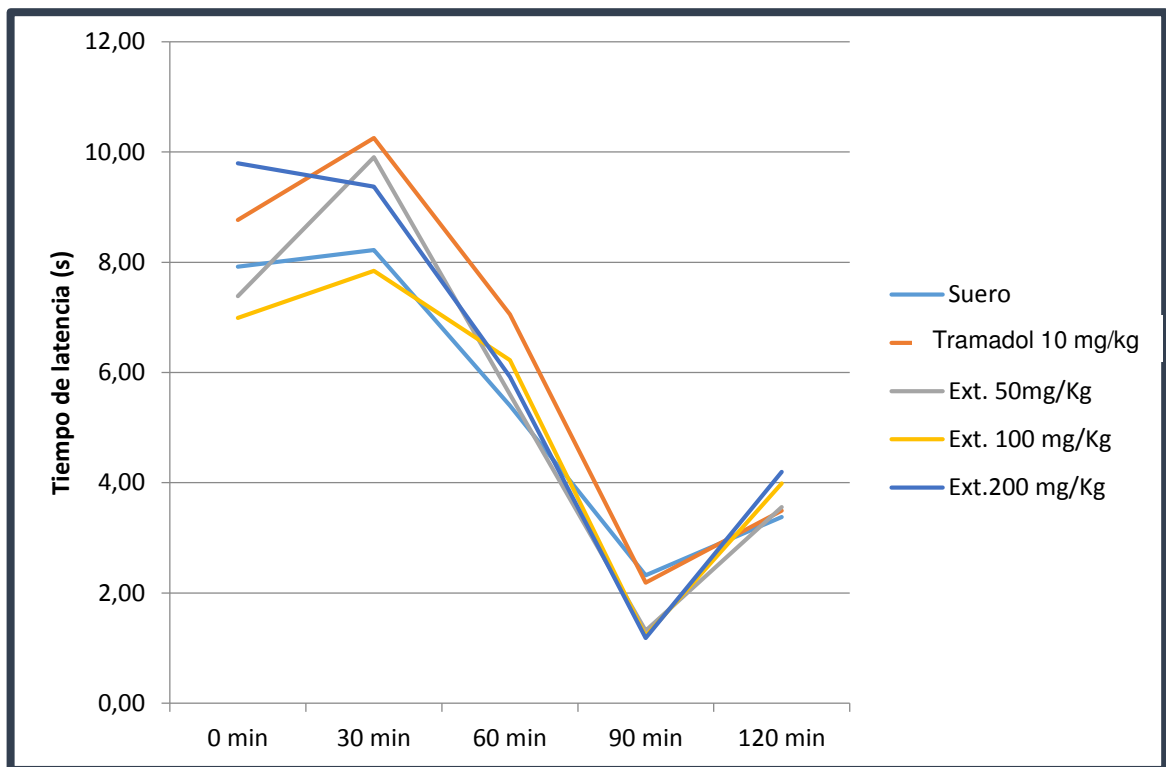


Gráfica N°7. Asociación entre la media del volumen del edema y el tiempo en horas

En la Gráfica N°7 se observa, de manera descriptiva y con más detalle, que existe efecto antiinflamatorio del extracto de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC con respecto al grupo control. Se puede observar la asociación entre la media del volumen del edema y el tiempo en horas, es notorio claramente que el extracto tuvo un mayor efecto en relación al suero fisiológico y mayor efecto también que Fenazopiridina (Pyridium®) según la concentración del extracto para ambos indicadores, siendo este hallazgo estadísticamente significativo ($p < 0.05$).

4.3. EFECTO DEL TRATAMIENTO ANALGÉSICO:

En la siguiente gráfica N°8 se observa, de manera descriptiva, que el efecto analgésico no se evidenció de la forma esperada. No se encontró diferencias significativas en el tiempo de latencia según grupos de estudio por cada punto de tiempo ($p > 0.05$); es decir se rechaza la hipótesis.



Gráfica N°8. Asociación entre el Tiempo de Latencia y el tiempo en minutos

V. DISCUSIÓN

En el presente estudio se realizó la experimentación para determinar el efecto antiinflamatorio y analgésico del extracto de hojas y tallos de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC (manayupa), para determinar su actividad antiinflamatoria y analgésica al ser administrado por vía oral en dosis de 50 mg/kg, 100 mg/kg y 200 mg/kg, comparándose dichos efectos con los medicamentos comerciales Fenazopiridina (Pyridium®) a dosis de 50mg/kg y Tramadol (Tramal®) 50 mg/mL.

Los resultados de la marcha fitoquímica permiten confirmar que el extracto alcohólico de hojas de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC posee flavonoides y fenoles entre otros, lo que concuerda con investigaciones hechas anteriormente en las partes aéreas de esta planta³³ corroborando así que la actividad antiinflamatoria evidenciada posiblemente se debe a la presencia abundante de grupos fenólicos y flavonoides presentes en los extractos vegetales tan igual como lo obtenido por Lozano y Bonilla^{5,7}. La presencia de los metabolitos presentes de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC como los flavonoides, son compuestos polifenólicos de bajo peso molecular que han probado tener efectos contra la inflamación del árbol bronquial² como lo mencionado por Acero, corroborando que no solo tienen efecto antiinflamatorio a nivel de vías urinarias, sino también en otros órganos del cuerpo humano. Posiblemente la actividad antiinflamatoria que se aprecia en esta investigación es consecuencia de la presencia de flavonoides y compuestos polifenólicos que científicamente ha evidenciado su actividad antiinflamatoria. Sin embargo, existe la necesidad de estudiar a fondo estos

metabolitos y descubrir su modo de acción, farmacocinética, biodisponibilidad y vías fisiológicas con suficiente detalle.

Al analizar los resultados de la prueba del efecto analgésico, estadísticamente no se logra ver un efecto significativo de analgesia a ninguna concentración del extracto de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC (manayupa) contradiciendo a lo expuesto por Zhan-Zhou³ quien demuestra el efecto analgésico de *Desmodium podocarpum* y Kumar con el *Desmodium gangeticum*, siendo estos el mismo Género de la planta estudiada en el presente trabajo de investigación, la cual buscaba demostrar por primera vez el efecto analgésico. Por otro lado, en comparación con el Tramadol (Tramal®) tampoco se muestra efecto analgésico contraponiendo a lo demostrado por Gordillo y Juarez³⁴, quienes mencionan que el Tramadol tiene un efecto analgésico significativo incluso en un postoperatorio en cesárea.

Analizando los resultados de la prueba del efecto antiinflamatorio, podemos señalar que el extracto de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC a la dosis de 50 mg/kg presentó un efecto moderado con respecto al control, mientras que el extracto a la dosis de 100 mg/kg y 200 mg/kg presentó una mejor actividad antiinflamatoria significativa y con ello una mayor disminución del volumen de edema en las patas de las ratas cepa Holtzman en comparación incluso con el medicamento Fenazopiridina (Pyridium®), que es un medicamento comercial utilizado para procesos inflamatorios de las vías urinarias tal como lo señala el Ministerio de Salud en su Informe Técnico²⁹. Demostrándose así que las concentraciones del extracto etanólico de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC., con actividad antiinflamatoria fueron a las dosis de 100 mg/kg y 200 mg/kg.

Por otro lado Rodriguez y Almeida, en un estudio experimental "*in vivo*", en conejos, determinaron que el decocto de *Desmodium mollicum* (Kunth) DC a la dosis de 50 mg/kg posee efecto antiinflamatorio significativo frente al grupo control y no significativo frente al patrón (Piroxican a la dosis de 0,3 mg/kg) y a la dosis de 100 mg/kg posee efecto antiinflamatorio muy altamente significativo frente al control y altamente significativo frente a Piroxicam, concluyendo que el decocto de *Desmodium mollicum* (Kunth) DC posee efecto antiinflamatorio⁸.

Sin embargo Lozano y Bonilla⁵ demostraron el efecto antiinflamatorio a 200 mg/kg tal cual el presente trabajo de investigación, demostrando una vez más que el extracto de *Desmodium mollicum* (Kunth) DC posee actividad antiinflamatoria, sin embargo se observa que la muestra estudiada por Bonilla no proviene de la misma ciudad que nuestra muestra, es por ello que exista la posibilidad que el nivel de actividad antiinflamatoria sea diferente, es por ello que existe la necesidad de estudiar a fondo estos comparativos.

Realizando investigaciones en estos últimos 5 años no se ha encontrado estudios demostrativos del efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de *Desmodium mollicum* (Kunth) DC, sin embargo se ha demostrado el efecto antiinflamatorio en las plantas del mismo género tal como lo menciona Manoj y Kumud¹⁰ en su estudio de la actividad antiinflamatoria de *Desmodium gangeticum* (L.) utilizando la carragenina y modelos de prueba de retorcimiento inducido por ácido acético en ratas, el cual el resultado muestra que el tratamiento previo por vía oral de animales con extracto de *Desmodium gangeticum* (50-200 mg/kg de peso corporal) inhibió significativamente ($P < 0.05$) el edema de la pata inducida por carragenina; así como también la

evaluación de *Desmodium podocarpum* de Zhan-Zhou³ quien muestra que la inyección subplantar de carragenina redujo notablemente el edema de la pata en ratas a una dosis más alta (200 mg / kg). El porcentaje de edema de la pata en ratas se redujo significativamente con la administración de 200 mg/kg, como también pudimos demostrar en nuestra investigación, demostrando así que no solo la especie *Desmodium molliculum* (Kunth) DC tiene un efecto antiinflamatorio sino que también lo presentan el género *Desmodium*, conocidos también a nivel tradicional como lo detalla Bussman³⁵ en su libro de plantas medicinales de los Andes y la Amazonía. La flora mágica y medicinal el Norte del Perú.

Actualmente los conocimientos tradicionales de plantas medicinales todavía se enseñan verbalmente sin ningún escrito, es por ellos que Bussman y Sharon³⁵ lograron reunir esos conocimientos y describirlo en su publicación acerca de los conocimientos de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC como antiinflamatorio (interno y externo), de los riñones, ovarios, gastritis, diarrea, desinflamante del tracto digestivo, vías urinarias^{35,36}, especialmente para las mujeres la recomendación de curanderos y médicos naturistas era la manayupa (*Desmodium molliculum* (Kunth) DC) con efectos benéficos en la próstata y el aparato urinario⁹.

VI. CONCLUSIONES

Al realizar el análisis fitoquímico preliminar del extracto etanólico de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC, en determinaciones cualitativas efectuadas, se demostró que flavonoides, aminoácidos, taninos, azúcares reductores y fenoles, estuvieron presentes en el extracto.

Según el diseño experimental del presente estudio, se demostró que el extracto etanólico de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC a dosis de 50 mg/kg, 100 mg/kg y 200 mg/kg con respecto al tiempo, tiene el efecto antiinflamatorio en asociación al volumen de edema.

Según el diseño experimental del presente estudio, el extracto etanólico de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC no presentó efecto analgésico, ya que no se encontró diferencias significativas en el tiempo de latencia según grupos de estudio por cada punto de tiempo y concentración.

Al realizar la comparación del efecto antiinflamatorio y analgésico del extracto etanólico de *Desmodium molliculum* frente a fenazopiridina y tramadol respectivamente, se evidenció estadísticamente que ambos medicamentos comerciales no presentaron el efecto esperado frente al extracto.

VII. RECOMENDACIONES

- ✓ Efectuar estudios como la cromatografía en capa fina y HPLC para determinar los metabolitos responsable de la actividad de antiinflamación y demostrar cual es el metabolito responsable de su efecto en esta especie.
- ✓ Hacer estudios más amplios para poder ratificar los efectos demostrados en el presente estudio
- ✓ Continuar con las investigaciones en el campo de productos naturales, en especial las plantas de uso popular con que cuenta nuestro Perú, y afianzar los estudios en antiinflamación, analgesia de las vías urinarias, entre otros.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) Gonzáles M., Gonzales F. Síndrome de vejiga dolorosa, cistitis intersticial. Asociación Española de Enfermería en Urología. Canarias. 2012; 122:14-16.
- 2) Acero B., Millones E., Ticona D., Torres L., Actividad antiinflamatoria del extracto etanólico de *Desmodium molliculum* en el modelo murino de asma, CIMEL 2012, 17. 62-67
- 3) Zhan-Zhou Z., Ke-Jia M., Xian R., Cheng-Jian Z., Ting H., Qiao-Yan Zhang, Lu-Ping Q., Analgesic, anti-inflammatory and antipyretic activities of the petroleum ether fraction from the ethanol extract of *Desmodium podocarpum*., J of E. 2011, 133. 1126-1131
- 4) Hammond GB, Fernandez ID, Villegas LF, Vaisberg AJ. A survey of traditional medicinal plants from the Callejon de Huaylas, department of ancash, Perú. J of Ethnopharmacology. 1998; 61: 17-30.
- 5) Lozano N., Bonilla P., Arroyo J., Arias G., Córdova A. y Baldoce F., Evaluación Fitoquímica y Actividad Biológica de *Desmodium molliculum* (H.B.K.) D.C. (Manayupa), Ciencia e Investigación 2001,4. 37-44.
- 6) Allué J., *Desmodium adscendens*. *Desmodium adscendens* Swartz (Papilionáceas), N. Médiatrix 1998; 49: 42-46.
- 7) Barreto D., Bonilla P., Metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de hojas de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC. (Manayupa), Ciencia e Inv. 2017; 20: 3-8.
- 8) Rodriguez E., Almeida S., Evaluación del potencial genotóxico de cinco especies medicinales de uso popular en el Perú. [Tesis título profesional] Iquitos. Universidad Nacional de la Amazonía Peruana.2009: 67-76
- 9) Madaleno M.,“Etno-farmacología en Iberoamérica, una alternativa a la globalización de las prácticas de cura,” Cuadernos Geográficos, 2007;41: 61-95.
- 10) Kumar M. ,Upadhyaya K. Evaluation of In Vitro Anti-Oxidant, AntiNociceptive and Anti-Inflammatory properties of *Desmodium gangeticum* (L.) in Experimental Animal Models. College of Pharmacy, Gyanilndersingh Institute of professional studies, Dehradun, India. 2013;3: 256-265.

- 11) Lai, Peng , Huang, y clgs. Analgesic and anti-inflammatory activities of methanol extract from *Desmodium triflorum* DC in mice. College of Pharmacy, China Medical University, Taiwan. Am J Chin Med. 2009;37(3):88-573.
- 12) Azab A., Nassar A. Anti-Inflammatory Activity of Natural Products. University of the Negev.Israel.2016; 21: 2-15
- 13) Flores D., Arbieta A. Nivel de conocimiento en el uso de plantas medicinales en infecciones urinarias del Hospital Nacional Arzobispo Loayza (Mayo y Junio) 2015. Universidad Alas Peruanas. Perú. 2015. 9-11
- 14) Condori Y., Tunque M. Plantas medicinales usadas durante el puerperio en las comunidades del distrito de Palca a 3650 m.s.n.m. Huancavelica - 2017” [Tesis título profesional]. Universidad Nacional de Huancavelica.2018. 2-37
- 15) Rojas R, Bustamante B, Bauer J, Fernández I, Albán J, Lock O. Antimicrobial activity of selected Peruvian medicinal plants. J Ethnopharmacol. 2003;88(2):199-204.
- 16) Cronquist A. The evolution and classification of flowering plants. New York,The New York Botanical Garden,1988.p 852.
- 17) Olivera N., Principe P. Extracto etanólico de *Desmodium molliculum* (Kunth) DCy su efecto antibacteriano sobre cultivos de *Escherichia coli*, estudios *in vitro*. Tesis para optar al Título pofesional. Universidad Inca Garcilaso de la Vega.2018. 11-14
- 18) Aguirre, Z., Yaguana C. Y Merino B. Plantas medicinales de la zona andina de la provincia de Loja. Primera Edición. Loja, 2014.193. 82-83
- 19) García P. Inflamación Revista.Real Academia de Ciencias.Exact.Fís.Nat. Madrid. 2008; 102: 91-159.
- 20) Aguirre M., Quinatana R. Citoquinas. En: Brandan N., editor, Cátedra de Bioquímica - Facultad de Medicina – U.N.N.E. Corrientes.2002. 1-3.
- 21) Gonzáles J. Analgesia postoperatoria mediante infusión de anestésico local a través de un catéter interfascial en cirugía colorrectal laparoscópica. [Tesis doctoral]. Universidad del País Vasco. 2016. 18-23
- 22) Andre L. “Evaluacion de uso de ketamina a dosis bajas en analgesia multimodal para pacientes con fracturas de miembros toracicos estudio

- doble ciego". Universidad Autónoma del Estado de México. [Tesis especialidad]. México D.F. 2013. 6-7.
- 23) Maestre J. Colombia Médica. Fisiología del dolor en el adulto mayor. Corporación Editora Médica del Valle. Colombia. 2001; 32(4): 184-188.
 - 24) Stellman J., Sistema Renal y Urinario. En: Hemstree G., Enciclopedia de salud y seguridad en el trabajo. 4ta edición. España: Oficina Internacional del Trabajo (Ginebra), 1998. 8.2-8.11
 - 25) Ramón G. Sistema renal y actividad física. Universidad de Antioquia. Colombia. 2010. 2-15.
 - 26) Arenal J. Aparato genitourinario. Curso 14/15. Anatomía aplicada. Disponible en: <http://www.iescarlosbousono.com/wordpress/wp-content/uploads/2008/04/Aparato-Genitourinario.pdf>
 - 27) Laurence L. Brunton. Goodman y Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 12ª ed. México D.F: McGraw-Hill interamericana editores. 2012.
 - 28) Marín H., Fonseca C., Sáenz D. Estudio de utilización de fenazopiridina en la atención médica ambulatoria en la seguridad social Acta Médica Costarricense. 2012; 54: 170-174
 - 29) Ministerio de Salud. Informe Técnico N° 03-2012. DIGEMID. Lima. 2012.1-8
 - 30) Ministerio de Salud. Informe Técnico N° 16-2009. DIGEMID. Lima. 2009.1-4
 - 31) Aranda A. Pastor L. Ética de la experimentación con animales. Rev. Bioética y Ciencias de la Salud. 2017;3: 1-3
 - 32) DiRosa M., Biological properties of carrageenan. Journal of Pharmacy and Pharmacology. 1972; 24:89–102.
 - 33) Acaro F. Efecto anticonceptivo y post-coital del extracto etanólico del *Desmodium molliculum* (HBK). DC. "Manayupa" en ratas hembras cepa Holtzmann. Tesis para optar el Grado Académico de Magíster en Farmacología con mención en Farmacología Experimental. UNMSM 2010. 2-20
 - 34) Gordillo A., Juárez E., Uso de tramadol como analgesia postoperatoria en cesárea. Revista de Especialidades Médico-Quirúrgicas. 2005; 10: 50-54.



- 35) Bussmann R., Sharon D. Plantas medicinales de los Andes y la Amazonía. La flora mágica y medicinal del Norte del Perú. Perú. Graficart SRL. 2015: 57-149
- 36) García F. Impacto antrópico en las plantas medicinales nativas del departamento de Amazonas, Perú. 2006 – 2007. Tesis para optar al Grado Académico de Doctorado en Ciencias Ambientales. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. 2008. 16-20

IX. ANEXOS

ANEXO 1: CERTIFICADO SANITARIO DE LOS RATONES ALBINOS

INSTITUTO NACIONAL DE SALUD CENTRO NACIONAL DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS COORDINACIÓN DE BIOTERIO			
CERTIFICADO SANITARIO N°		199-2018	
Producto	: Ratón albino	Lote N°	: M-29-2018
Especie	: <u>Mus musculus</u>	Cantidad	: 36
Cepa	: Balb/c/CNPB	Edad	: 1 mês ½
Peso	: Mayor a 25 g	Sexo	: machos
Guía de remisión	: 036123	Destino	: Poma Huilcapuri, Rosario 1.
Chorrillos	: 17 - 07 - 2018		
El Médico Veterinario, que suscribe, Arturo Rosales Fernández , Coordinador de Bioterio Certifica, que los animales arriba descritos se encuentran en buenas condiciones sanitarias *.			
*Referencia: PR.T-CNPB-153, Procedimiento para el ingreso, Cuarentena y Control Sanitario para Animales de Experimentación.			
Chorrillos, 17 de julio del 2018 (Fecha de emisión del certificado)			
NOTA: El Bioterio no se hace responsable por el estado de los animales, una vez que éstos egresan del mismo.		 M.V. Arturo Rosales Fernández C.M.V.P. 1586	

**ANEXO 2: CERTIFICADO SANITARIO DE LAS RATAS ALBINAS CEPA
HOLTZMAN**

		INSTITUTO NACIONAL DE SALUD CENTRO NACIONAL DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS COORDINACIÓN DE BIOTERIO	
CERTIFICADO SANITARIO N°		198-2018	
Producto :	Rata Albina	Lote N° :	R - 07-2018
Especie :	<u>Rattus norvegicus</u>	Cantidad :	36
Cepa :	Holtzman	Edad :	1 mes ½
Peso :	150 g.	Sexo :	machos
G.R. :	036122	Destino :	Poma Hualcapuri, Rosario I.
Lima :	16-07-2018		
<p>El Médico Veterinario, que suscribe, Arturo Rosales Fernández, Coordinador de Bioterio Certifica, que los animales arriba descritos se encuentran en buenas condiciones sanitarias *.</p> <p>•Referencia : P.R.T-CNPB-153, Procedimiento para el ingreso, Cuarentena y Control Sanitario para Animales de Experimentación.</p> <p>Chorrillos, 16 de julio del 2018 (Fecha de atención y emisión del certificado)</p> <p>NOTA : El Bioterio no se hace responsable por el estado de los animales, una vez que éstos egresan del mismo.</p>			
		 M.V. Arturo Rosales Fernández C.M.V.P. 1586	

**ANEXO 3: CONSTANCIA DE LA CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE
Desmodium molliculum (Kunth) DC.**

  **UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
MUSEO DE HISTORIA NATURAL 

"Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional"

CONSTANCIA N°276-USM-2018

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (planta fértil) recibida de **Rosario Isabel Poma Hulicapuri, estudiante**, ha sido estudiada y clasificada como: ***Desmodium molliculum* (Kunth) DC.**, y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE: ROSIDAE

ORDEN: FABALES

FAMILIA: FABACEAE

GENERO: *Desmodium*

ESPECIE: *Desmodium molliculum* (Kunth) DC.

Nombre vulgar: "Manayupa"
Determinado por: Mag. Asunción A. Cano Echevarría

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que considere conveniente.

Lima, 23 de julio de 2018

 
Mag. ASUNCIÓN A. CANO ECHEVARRÍA
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)


ACE/ddb

An. Armadas 1256, Jesús María
Apdo. 14-0434, Lima 14, Perú


Teléfono:
619-7000 exts 5701, 5703, 5704

E-mail: asuncion@unmsm.edu.pe
<http://masm.unmsm.edu.pe>

ANEXO 4: PROTOCOLO DE ANÁLISIS DEL SCREENING FITOQUÍMICO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS Y TALLOS DE *Desmodium molliculum*



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
CENPROFARMA
CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO - CCA



PROTOCOLO DE ANÁLISIS N.º00390-CPF-2018


ORDEN DE ANÁLISIS
SOLICITADO POR
MUESTRA
NÚMERO DE LOTE
CANTIDAD
FECHA DE RECEPCIÓN
FECHA DE FABRICACIÓN
FECHA DE VENCIMIENTO



: 05034/2018
: ROSARIO POMA HULLCAPURI
: MANAYUPA
: ----
: 01 fresco x 20 mL
: 20 de Agosto del 2018
: ----
: ----

MARCHA FITOQUÍMICA			
METABOLITO	ENSAYO	MÉTODOS	RESULTADOS
ANTOCIANINAS	Prueba cualitativa	Cualitativo	-
ALCALOIDES	Reacción de Dragendorff	Cualitativo	+
	Reacción de Mayer	Cualitativo	-
	Reacción de Wagner	Cualitativo	+
LACTONAS	Reacción de Baljet	Cualitativo	+
FLAVONOIDES	Reacción de Shinoda	Cualitativo	++
AMINOÁCIDOS	Reacción de Ninhidrina	Cualitativo	++
CARDENÓLIDOS	Reacción de Kedde	Cualitativo	+
ESTEROIDES	Reacción de Liebermann Burchard	Cualitativo	-
SAPONINAS	Reacción de espuma	Cualitativo	-
TANINOS	Reacción con cloruro férrico	Cualitativo	+++
TRITERPENOS	Reacción de Liebermann - Burchard	Cualitativo	-
AZÚCARES REDUCTORES	Reacción de Fehling	Cualitativo	+++
FENOLES	Reacción de cloruro férrico	Cualitativo	+++

"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"

Jr. Puno N° 1002 Jardín Botánico Lima 1 - Perú
☎ (511) 619-7000 anexo 4824 ✉ Ap. Postal 4539 - Lima 1
E-mail: cca.farmacia@unmsm.edu.pe <http://farmacia.unmsm.edu.pe>





UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
CENPROFARMA
CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO - CCA




Leyenda:

- +++ : Reacción muy evidente
- ++ : Reacción evidente
- +
- : No hubo reacción

Lima, 22 de Agosto del 2018




Q.F. Gustayo Guerra Brizuela
Director del Centro de Control Analítico

"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓNICO"

Jr. Puno N° 1002 Jardín Botánico Lima 1 - Perú
☎ (511) 619-7000 anexo 4824 ✉ Ap. Postal 4559 - Lima 1
E-mail: cca.farmacia@unmsm.edu.pe <http://farmacia.unmsm.edu.pe>



ANEXO 5

Tabla 6: Comparación de medias del volumen de edema en el extracto etanólico de *Desmodium molliculum* “manayupa comparable con la fenazopiridina (Pyridium®) en ratas albinas Holtzman

	N	Media	Desviación estándar	ANOVA	Prueba de Tukey				
					Suero	PYRIDIMUM® 50 mg/kg	Ext. 50mg/kg	Ext. 100 mg/kg	Ext.200 mg/kg
Suero	48	2.06	0.45	F=6.5 P=0.000**			p=0.04*	p=0.000*	p=0.000*
PYRIDIMUM® 50 mg/kg	48	1.94	0.41					p=0.01*	
Ext. 50mg/kg	48	1.82	0.42						
Ext. 100 mg/kg	48	1.67	0.37						
Ext.200 mg/kg	48	1.76	0.40						

** p<0,05 existe diferencias significativas ANOVA * p<0,05 existe diferencias significativas Prueba de Tukey

De la tabla se aprecia que la media del volumen de edema en el suero es 2.06mL±0.45mL ; la media del volumen de edema en el Fenazopiridina (Pyridium®) 50 mg/kg es 1,94mL±0.41mL ; la media del volumen de edema en el Ext. 50mg/kg es 1.82mL±0.42mL ; la media del volumen de edema en el Ext. 100mg/kg es 1.67mL±0.47mL ; la media del volumen de edema en el Ext. 200mg/kg es 1.76mL±0.40mL . Asimismo se aprecia que $\mu_{\text{suero}} < \mu_{\text{ext50mg/kg}}$,p<0.04 ; $\mu_{\text{suero}} < \mu_{\text{ext100mg/kg}}$,p<0.05 ; $\mu_{\text{suero}} < \mu_{\text{ext200mg/kg}}$,p<0.05 ; $\mu_{\text{pyr50mg}} < \mu_{\text{ext100mg/kg}}$,p<0.05

Tabla 7: Comparación de medias del volumen de edema en el extracto etanólico de *Desmodium molliculum* “manayupa comparable con la fenazopiridina en ratas albinas Holtzman según tiempo

	N	Media	Desviación estándar	ANOVA	PRUEBA DE TUKEY				
					Suero	PYRIDIMUM® 50 mg/kg	Ext. 50mg/kg	Ext. 100 mg/kg	Ext.200 mg/kg
T0									
Suero	6	1.37	0.16	p=0.31					
PYRIDIMUM® 50 mg/kg	6	1.24	0.07						
Ext. 50 mg/kg	6	1.34	0.12						
Ext. 100 mg/kg	6	1.29	0.09						
Ext.200 mg/kg	6	1.38	0.16						
T1									
Suero	6	1.53	0.06	p=0.000**		p=0.00*	p=0.00*	p=0.00*	p=0.00*
PYRIDIMUM® 50 mg/kg	6	1.48	0.06						
Ext. 50mg/kg	6	1.51	0.12						
Ext. 100 mg/kg	6	1.55	0.12						
Ext.200 mg/kg	6	2.00	0.18						
T2									
Suero	6	2.56	0.32	p=0.003**			p=0.01*	p=0.03*	
PYRIDIMUM® 50 mg/kg	6	2.21	0.47						
Ext. 50mg/kg	6	1.86	0.21						

Ext. 100 mg/kg	6	1.77	0.37						
Ext.200 mg/kg	6	2.00	0.25						
T3									
Suero	6	2.32	0.17	p=0.000**			p=0.00*	p=0.00*	p=0.00*
PYRIDIDIUM® 50 mg/kg	6	2.19	0.27				p=0.00*	p=0.00*	p=0.00*
Ext. 50mg/kg	6	1.32	0.44						
Ext. 100 mg/kg	6	1.22	0.08						
Ext.200 mg/kg	6	1.19	0.13						
T4									
Suero	6	2.08	0.17	p=0.000**				p=0.00*	p=0.00*
PYRIDIDIUM® 50 mg/kg	6	2.15	0.08					p=0.00*	p=0.00*
Ext. 50mg/kg	6	2.17	0.24					p=0.00*	p=0.00*
Ext. 100 mg/kg	6	1.38	0.08						
Ext.200 mg/kg	6	1.35	0.13						
T5									
Suero	6	2.00	0.08	p=0.20					
PYRIDIDIUM® 50 mg/kg	6	2.12	0.12						
Ext. 50mg/kg	6	2.17	0.20						
Ext. 100 mg/kg	6	2.02	0.13						
Ext.200 mg/kg	6	2.13	0.16						
T6									
Suero	6	2.00	0.07	p=0.76					
PYRIDIDIUM® 50 mg/kg	6	2.03	0.16						
Ext. 50mg/kg	6	2.08	0.25						
Ext. 100 mg/kg	6	2.11	0.07						
Ext.200 mg/kg	6	2.04	0.18						
T7									
Suero	6	2.60	0.19	p=0.000**		p=0.00*	p=0.00*	p=0.00*	p=0.00*
PYRIDIDIUM® 50 mg/kg	6	2.11	0.31						
Ext. 50mg/kg	6	2.11	0.20						
Ext. 100 mg/kg	6	2.04	0.08						
Ext.200 mg/kg	6	2.00	0.17						

**p<0,05 existe diferencias significativas ANOVA * p<0,05 existe diferencias significativas Prueba de Tukey

se aprecia que en el T1 : $\mu_{\text{suero}} > \mu_{\text{PYRIDIDIUM 50 mg}}$, $p > 0.05$; $\mu_{\text{suero}} < \mu_{\text{ext50mg/kg}}$, $p < 0.05$; $\mu_{\text{suero}} > \mu_{\text{ext100mg/kg}}$, $p < 0.05$; $\mu_{\text{suero}} < \mu_{\text{ext200mg/kg}}$. En el tiempo T2: $\mu_{\text{suero}} > \mu_{\text{PYRIDIDIUM 50 mg}}$, $p > 0.05$; $\mu_{\text{suero}} < \mu_{\text{ext50mg/kg}}$, $p < 0.05$. En el T3 : $\mu_{\text{suero}} > \mu_{\text{ext50mg/kg}}$, $p < 0.05$; $\mu_{\text{suero}} > \mu_{\text{ext100mg/kg}}$, $p < 0.05$; $\mu_{\text{suero}} > \mu_{\text{ext200mg/kg}}$; $\mu_{\text{PYRIDIDIUM 50 mg}} > \mu_{\text{ext50mg/kg}}$, $p < 0.05$; $\mu_{\text{PYRIDIDIUM 50 mg}} > \mu_{\text{ext100mg/kg}}$, $p < 0.05$; $\mu_{\text{PYRIDIDIUM 50 mg}} > \mu_{\text{ext200mg/kg}}$, En el T4: $\mu_{\text{suero}} > \mu_{\text{ext100mg/kg}}$, $p < 0.05$; $\mu_{\text{suero}} < \mu_{\text{ext200mg/kg}}$, $p < 0.05$; $\mu_{\text{PYRIDIDIUM 50 mg}} < \mu_{\text{ext100mg/kg}}$, $p < 0.05$; $\mu_{\text{PYRIDIDIUM 50 mg}} < \mu_{\text{ext200mg/kg}}$, $p < 0.05$; $\mu_{\text{ext50mg/kg}} < \mu_{\text{ext100mg/kg}}$, $p < 0.05$; $\mu_{\text{ext50mg/kg}} < \mu_{\text{ext200mg/kg}}$, $p < 0.05$; En el T7: $\mu_{\text{suero}} < \mu_{\text{PYRIDIDIUM 50 mg}}$, $p < 0.05$; $\mu_{\text{suero}} < \mu_{\text{ext50mg/kg}}$, $p < 0.05$; $\mu_{\text{suero}} < \mu_{\text{ext100mg/kg}}$, $p < 0.05$; $\mu_{\text{suero}} < \mu_{\text{ext200mg/kg}}$

Tabla 8: Comparación de medias del tiempo de latencia en el extracto etanólico de *Desmodium molliculum* “manayupa comparable con tramadol (Tramal®) en ratones albinos

**p<0,05 existe diferencias significativas ANOVA

	N	Media	Desviación estándar	ANOVA
Suero	40	6.27	2.97	F=1 P=0.36**
Tramadol 10 mg/kg	40	7.79	4.22	
Ext. 50mg/kg	40	6.94	3.60	
Ext. 100 mg/kg	40	6.77	2.99	
Ext.200 mg/kg	40	7.36	3.56	

De la taba se aprecia que la media del tiempo de latencia en el suero es $6.27s \pm 2.97s$; la media del tiempo de latencia en el suero es $6.27s \pm 2.97s$; en el Fenazopiridina (Pyridium®) 50 mg/kg es $7.79s \pm 4.22s$; en el Ext. 50mg/kg es $6.94s \pm 3.6s$; en el Ext. 100 mg/kg es $6.77s \pm 2.99s$; en el Ext.200 mg/kg es $7.36s \pm 3.56s$ No se encontró diferencias significativas según grupos de estudio.

Tabla 9: Comparación de medias del tiempo de latencia en el extracto etanólico de *Desmodium molliculum* “manayupa comparable con Tramadol (Tramal®) en ratones albinos según tiempo

	N	Media	Desviación estándar	ANOVA
0				
Suero	8	7.92	2.83	p=0.40
TRAMADOL 10mg/kg	8	8.77	3.22	
Ext. 50mg/kg	8	7.39	2.24	
Ext. 100 mg/kg	8	6.99	3.63	
Ext.200 mg/kg	8	9.80	3.48	
30				
Suero	8	8.22	2.16	p=0.62
TRAMADOL 10mg/kg	8	10.25	3.10	
Ext. 50mg/kg	8	9.91	5.33	
Ext. 100 mg/kg	8	7.84	2.90	
Ext.200 mg/kg	8	9.37	3.98	
60				
Suero	8	6.45	2.71	p=0.48
TRAMADOL 10mg/kg	8	9.39	5.35	

Ext. 50mg/kg	8	8.27	2.25	
Ext. 100 mg/kg	8	8.79	3.28	
Ext.200 mg/kg	8	7.49	2.76	
90				
Suero	8	5.40	2.94	p=0.75
TRAMADOL 10mg/kg	8	7.06	3.87	
Ext. 50mg/kg	8	5.60	1.59	
Ext. 100 mg/kg	8	6.23	1.37	
Ext.200 mg/kg	8	5.92	2.72	
120				
Suero	8	3.38	1.55	p=0.78
TRAMADOL 10mg/kg	8	3.49	1.66	
Ext. 50mg/kg	8	3.56	1.89	
Ext. 100 mg/kg	8	3.99	0.73	
Ext.200 mg/kg	8	4.20	1.56	

No se encontró diferencias significativas en el tiempo de latencia según grupos de estudio por cada punto de tiempo